



**You have downloaded a document from
RE-BUŚ
repository of the University of Silesia in Katowice**

Title: Badanie wybranych efektów związanych z transportem chiralnych profenów

Author: Magdalena Knaś

Citation style: Knaś Magdalena. (2013). Badanie wybranych efektów związanych z transportem chiralnych profenów. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIwersytet ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

Magdalena Knaś

***Badanie wybranych efektów związanych
z transpotrem chiralnych profenów***

Praca doktorska wykonana we współpracy
Zakładu Chemii Organicznej oraz
Zakładu Chemii Ogólnej i Chromatografii
Instytutu Chemii
Uniwersytetu Śląskiego

Promotor: Prof. dr hab. inż. Jarosław Polański

Promotor pomocniczy: dr Mieczysław Sajewicz

Katowice 2013



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



***Autorka otrzymała stypendium w ramach projektu
DoktoRIS – Program stypendialny na rzecz innowacyjnego
Śląska współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach
Europejskiego Funduszu Społecznego***



Dr 96 3397

*Serdecznie dziękuję Panu prof. dr hab. inż. Jarosławowi
Polańskiemu, promotorowi mojej pracy doktorskiej, za
wskazanie interesującej tematyki badawczej, za opiekę
naukową, okazaną wszechstronną pomoc i życzliwość,
a także wnikliwe uwagi podczas wykonywania
i redagowania niniejszej pracy.*

*Panu dr Mieczysławowi Sajewiczowi,
promotorowi pomocniczemu, za cenne wskazówki
w trakcie wykonywania badań, za włożony trud i zaangażowanie oraz
udzielenie licznych rad nie tylko w sferze naukowej...
Pani prof. dr hab. Teresie Kowalskiej za nieocenioną pomoc
w trakcie realizacji niniejszej pracy, okazane serce, motywację
w chwilach zwątpienia oraz stworzenie wspaniałej atmosfery pracy...
Dziękuję!*

*Pragnę również złożyć wyrazy wdzięczności
wszystkim Pracownikom Zakładu Chemii Organicznej
za mobilizację, cenne rady i dyskusje naukowe w trakcie
przygotowywania przeze mnie pracy doktorskiej.*

*Dziękuję rodzinie i najbliższym
za okazaną mi cierpliwość, pomoc, zrozumienie
i wsparcie w trudnych chwilach oraz przede
wszystkim za niegasnącą wiarę we mnie.*

*Podziękowania składam także wszystkim,
którzy w jakikolwiek sposób przyczynili się
do powstania niniejszej pracy doktorskiej.*

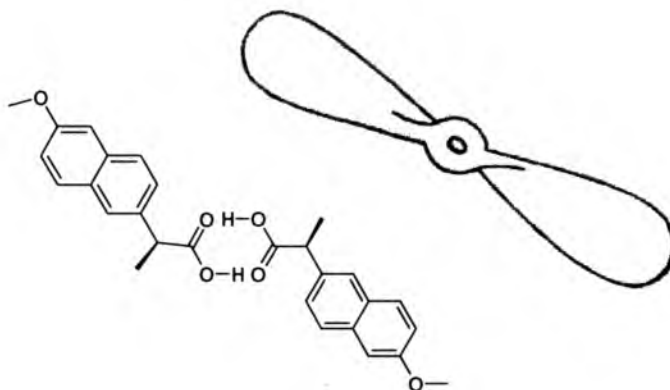
Spis treści	str.
1. Wprowadzenie	4
2. Część literaturowa	5
2.1. Chiralność	5
2.1.1. Rozdział enancjomerów	6
2.2. Profeny	8
2.2.1. Działanie profenów	10
2.2.2. Chiralność profenów	11
2.2.3. Preferencyjna krystalizacja	12
2.2.4. Budowa profenów- dimeryzacja	15
2.3. Śmigła molekularne	16
2.3.1. Analogia z obiektami makroskopowymi	17
2.3.2. Rys historyczny	20
2.3.2.1. Atropoizomeria	20
2.3.3. Różnorodność związków wykazujących rotacje	22
2.3.4. Wybrane właściwości śmigieł molekularnych	25
2.3.5. Efekty związane z transportem śmigieł molekularnych	26
3. Cel pracy	32
4. Badania własne	33
4.1. Cienkowarstwowa chromatografia profenów	33
4.2. Kwas (\pm)-2-fenylopropionowy	35
4.3. Naproksen	41
4.4. TLC modelowych śmigieł molekularnych	43
4.4.1. Związki ferro	43
4.4.2. Śmigła molekularne o wydłużonym kształcie	48
4.4.2.1. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy	48
4.4.2.2. Ru(acac) ₃ - tris(2,4-pentanodioniano)ruten (III)	49
4.5. Eksperymenty kontrolne	50
4.6. Zestawienie uzyskanych wyników chromatograficznych	53
4.7. Wpływ temperatury na efekty transportu profenów w chromatografii cienkowarstwowej	60
4.8. Bezpośrednie pomiary efektów transportu (R)-naproksenu metodą polarymetryczną	67
4.8.1. (R)-naproksen	67

4.9. Przeprowadzone syntezy	80
4.9.1. Synteza analogów dimerów kwasów karboksylowych [(1)-(5)]	80
4.9.2. Synteza modelowych śmigieł molekularnych z jednostką naproksenu	85
4.9.2.1. Kwas α -metylo-6-hydroksy-2-naftalenowy (6)	85
4.9.2.2. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy (7)	85
4.9.3. Syntezy estrów naproksenu (do preferencyjnej krystalizacji)	86
4.9.3.1. (S)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (8)	86
4.9.3.2. (RS)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (9)	86
4.9.3.3. (RS)-ester etylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (10)	86
4.10. Preferencyjna krystalizacja	87
5. Podsumowanie	88
6. Część eksperymentalna	90
6.1. Przeprowadzone syntezy	90
6.1.1 Sprzęt wykorzystany w syntezach	90
6.1.2. Pomiary eksperymentalne	90
6.1.3. Odczynniki używane do syntez	90
6.2. Syntezy diketopiperazyn	91
6.2.1. 2,5-diketopiperazyna; cyklo-(Gly) ₂ (1)	91
6.2.2. 3S,6S-dimetylo-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(L-Ala) ₂ (2)	91
6.2.3. 3,6-dimetylo-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(DL-Ala) ₂ (3)	92
6.2.4. Diamid kwasu 3,6-diketopiperazyno-2,5-dioctowego; cyklo-(DL-Asn) ₂ (4)	93
6.2.5. 3S,6S-bis(1-hydroksyetylo)-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(L-Thr) ₂ (5)	93
6.3. Syntezy potencjalnych śmigieł molekularnych	94
6.3.1. Syntezy półproduktów	94
6.3.1.1. Metanolan sodu NaOCH ₃	94
6.3.1.2. Bufor octanowy (pH = 4)	94
6.3.1.3. Kwas α -metylo-6-hydroksy-2-naftalenowy (6)	95
6.3.2. Syntezy główne	95

6.3.2.1. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy (7)	95
6.3.3. Syntezy estrów naproksenu (do preferencyjnej krystalizacji)	96
6.3.3.1. (S)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (8)	96
6.3.3.2. (RS)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (9)	97
6.3.3.3. (RS)-ester etylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (10)	98
6.4. Chromatografia cienkowarstwowa TLC	99
6.4.1. Sprzęt wykorzystany do badań chromatograficznych	99
6.4.2. Odczynniki używane do badań chromatograficznych	99
6.4.3. Kwas fenylopropionowy	100
6.4.4. Naproksen	101
6.4.5. Modelowe związki ferro	102
6.4.6. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy	103
6.4.7. Ru(acac) ₃ - (2,4-pentanodioniano)ruten (III)	104
6.4.8. Kwas p-aminobenzoowy	105
6.5. Chromatografia cienkowarstwowa TLC- efekt temperaturowy	106
6.6. Polarymetria	107
6.6.1. Sprzęt wykorzystany do badań polarymetrycznych	107
6.6.2. Odczynniki używane do badań polarymetrycznych	107
6.6.3. (R)-naproksen	107
6.7. Preferencyjna krystalizacja	108
6.7.1. Odczynniki używane w procesie	108
6.7.2. Sprzęt stosowany w procesie	108
6.7.3. Deracemizacja (RS)-estru metylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego	109
6.7.4. Deracemizacja (RS)-estru etylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego	109
7. Literatura	110
8. Dorobek naukowy	123
8.1. Publikacje	123
8.2. Udział w konferencjach naukowych	124
9. CURRICULUM VITAE	127

1. Wprowadzenie

Niniejsza praca doktorska poświęcona jest badaniom niesteroidowych leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych, zwanych profenami, np. naproksen, ibuprofen, ketoprofen, które swoją budową w formie dimerów przypominają makroskopowe śmigła. Związki te są chiralne, występują w dwóch formach enancjomerycznych, mogących znacznie różnić się aktywnością biologiczną, metabolizmem i farmakokinetyką. Organizmy żywe wykazują różną odpowiedź biologiczną w stosunku do każdego enancjomeru danego związku, w tym w szczególności leku. Tak więc kiedy jeden z izomerów może być lekiem, drugi może być nieaktywny lub w gorszym wypadku może działać niekorzystnie. Profeny posiadają szereg unikatowych właściwości. Jedną z nich jest podobieństwo dimeru cząsteczki do śmigła (Rys.1).



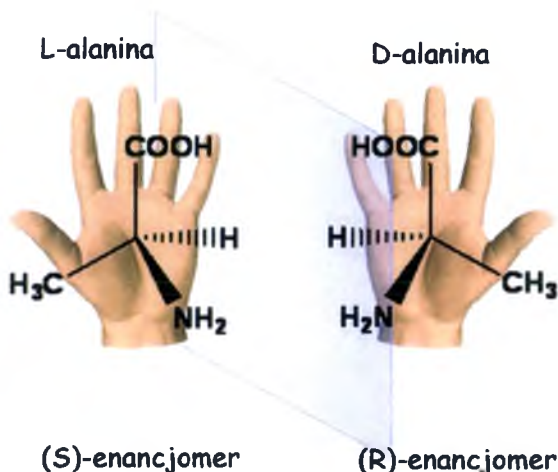
Rys. 1. Dimer naproksenu- analogia do makroskopowego śmigła.

W nanotechnologii pojęcie molekularnego śmigła stosowane jest dla określenia cząsteczek, które mogą łatwo obracać się względem siebie lub względem innych molekularnych obiektów [1].

2. Część literaturowa

2.1. Chiralność

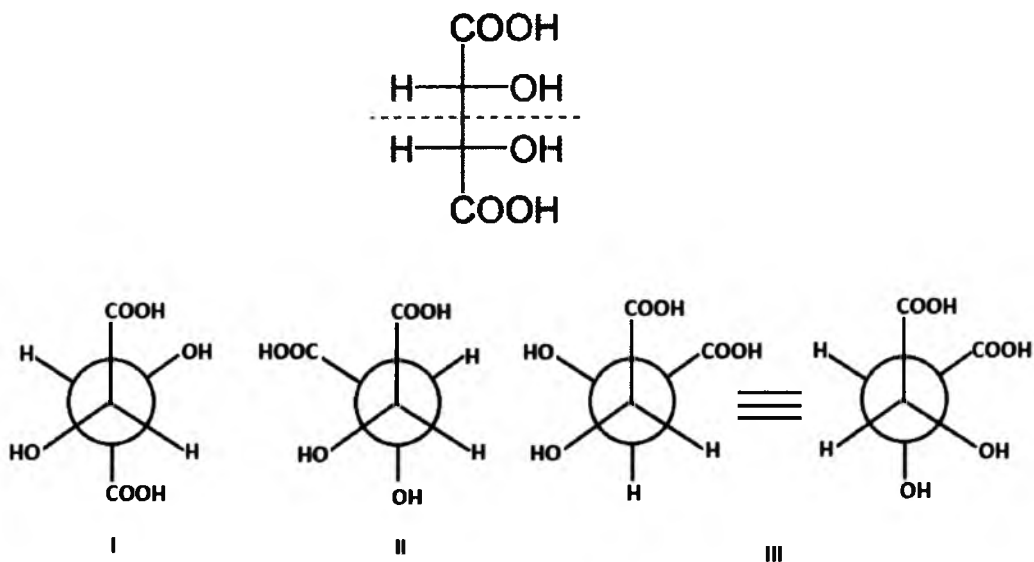
Chiralny znaczy nienakładalny na swoje lustrzane odbicie, w zastosowaniu do cząsteczek, konformacji, a także makroskopowych obiektów, takich jak kryształy. Zatem to od budowy przestrzennej danego związku zależy to, czy dany związek posiada swój enancjomer, czy też jego odbicie lustrzane jest tożsame z nim samym. Kiedy cztery różne atomy lub grupy atomów związane są z tym samym atomem węgla (chiralnym), wówczas mogą istnieć dwa różne ugrupowania przestrzenne, jak przedstawiono na poniższym rysunku (Rys. 2), które nie dają się na siebie nałożyć, lecz mają się do siebie jak lewa i prawa ręka.



Rys. 2. Lustrzane odbicia -enancjomery- cząsteczki alaniny [2].

Jeden układ odpowiada izomerowi skręcającemu płaszczyznę polaryzacji światła w prawo, a drugi przedstawia izomer o przeciwnej skręcalności. Oprócz tego w chiralnym otoczeniu wszystkie własności fizyczne i olbrzymia większość chemicznych są dla obu enancjomerów niemal identyczne. Wiele chiralnych związków wykazuje diametralnie różną aktywność biologiczną. Na przykład, (+)-D-glukoza jest w pełni przyswajalna przez organizm, zaś (-)-L-glukoza nie ulega takim przemianom [3]. Choć większość optycznie czynnych związków zawiera przynajmniej jeden chiralny atom węgla, to jednak jego obecność nie jest koniecznym warunkiem

występowania czynności optycznej [4]. Chiralność rodzi wiele zagadek, które do dzisiaj pozostają tajemnicą. Przykładem jest homochiralność przyrody, tzn. występowanie wyłącznie aminokwasów szeregu L albo cukrów szeregu D. Warto też wspomnieć w tym miejscu, że wiele problemów chiralnego świata cząsteczek jest mylnie interpretowanych bądź budzi wątpliwości. Przyczyną są trudności z przedstawianiem 3-wymiarowych (3D) cząsteczek w dwuwymiarowej rzeczywistości podręczników i publikacji. Na przykład na rysunku 3 przedstawiono cząsteczkę kwasu winowego.



Rys. 3. Odmiana mezo kwasu winowego oraz jej konformery (I-III) [5].

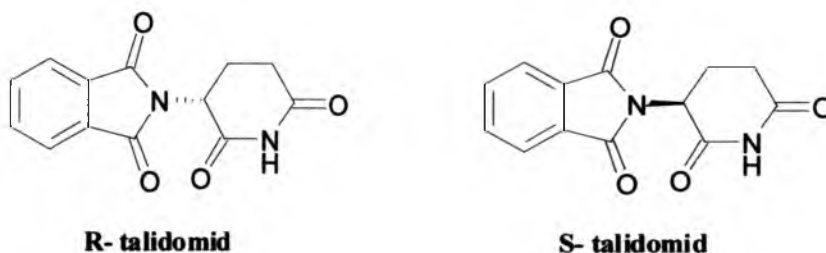
Izomer mezo jest optycznie nieczynny. Taką informację znajdziemy w każdym podręczniku chemii organicznej. W rzeczywistości cząsteczka ta może mieć jednak optycznie czynne konformery I i II. Tak więc brak czynności optycznej wynika z występowania statystycznego uśredniania tej właściwości [5].

2.1.1. Rozdział enancjomerów

Większość z molekuł spotykanych w układach biologicznych jest chiralna. Organizmy żywe składają się z chiralnych związków, takich jak cukry, aminokwasy, białka czy kwasy nukleinowe. W naturze cząsteczki te mogą istnieć jedynie w jednej z form enancjomerycznych, np. monosacharydy w formie D- oraz L-aminokwasy.

Organizmy żywe wykazują różną odpowiedź biologiczną na każdy z enancjomerów danego związku, w tym w szczególności leku w przypadku ludzi czy pestycydu u roślin. Chiralność oznacza także problem dla przemysłu farmaceutycznego, ponieważ enancjomery leku aplikowalnego w formie racemicznej mogą mieć różne działania farmakologiczne, a także wykazywać odmienne efekty farmakokinetyczne i farmakodynamiczne [6].

Ludzki organizm jest selektorem chiralnym, o zadziwiającej sprawności oddziaływania z każdym racemicznym lekiem w inny sposób, metabolizując oba enancjomery na różnych szlakach metabolicznych, co prowadzi do różnej aktywności farmakologicznej. Tak więc jeden izomer może wywołać pożądane efekty terapeutyczne, podczas gdy drugi może być nieaktywny, a w gorszym przypadku jego aktywność może być szkodliwa [7]. Przytoczyć tu można przykład talidomidu (Rys. 4), leku wprowadzonego na rynek w 1957 roku w postaci racematu. Lek ten został zarejestrowany w ponad 50 krajach i był sprzedawany jako środek uspokajający ogólnego stosowania bez recepty oraz w większych dawkach jako lek przeciwbólowy dla kobiet z powikłaną ciążą. Nie wiadano jeszcze wtedy, że działanie lecznicze wykazuje tylko jeden z enancjomerów (o konfiguracji absolutnej (R)). Drugi- (S) jest silnym teratogenem, uszkadzającym DNA płodu oraz wykazującym działanie hamujące angiogenezę (upośledzenie tworzenia się nowych naczyń w kończynach hamuje ich rozwój) [8].



Rys. 4. Enancjomery talidomidu.

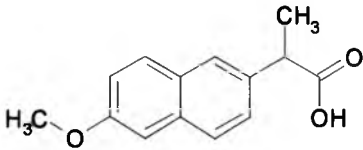
Zanim wykryto teratogenne działanie tego związku, spowodował on falę porodów dzieci z niedorozwojem kończyn i nienaturalnymi proporcjami ciała. Jego ofiarami zostało ok. 15.000 ludzkich płodów, z czego 12.000 zostało donoszone i urodzone jako dzieci z głębokimi wadami genetycznymi [3].

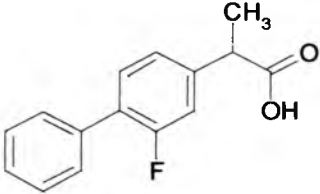
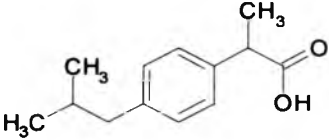
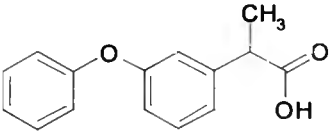
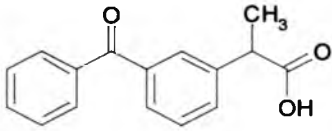
Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków wydała w 1992 roku rozporządzenie dotyczące rygorystycznych warunków wprowadzania na rynek nowych leków. W przypadku związków chiralnych tylko lek w postaci czystego terapeutycznego enancjomeru może zostać dopuszczony do sprzedaży, a każdy z enancjomerów danego leku powinien być badany odrębnie pod względem ścieżek metabolicznych. Zatwierdzenie na rynku leku w postaci racemicznej wymaga skrupulatnego wypełniania przepisów oraz dokładnych uzasadnień. Obecnie większość leków dostępnych w handlu wciąż sprzedawana jest w formie racematu [7]. Niemniej jednak, aby uniknąć ewentualnych niepożądanych skutków stosowania chiralnych leków, konieczne wydaje się stosowanie wyłącznie czystej, aktywnej formy izomerycznej i w tej postaci dopuszczanie ich do sprzedaży. Stąd istnieje ogromna potrzeba rozwijania technologii analizy i rozdzielania racemicznych leków.

2.2. Profeny

Profeny to grupa związków będących pochodnymi kwasu fenylopropionowego, wśród których wyróżnić można dobrze znane leki o działaniu przeciwbólowym, przeciwzapalnym i przeciwgorączkowym, takie jak naproksen, ibuprofen, flurbiprofen czy ketoprofen [3]. Najprostszy z przedstawicieli tej grupy, kwas 2-fenylopropionowy, nie posiada właściwości leczniczych w żadnej z form czynnych optycznie. Struktury najpopularniejszych profenów oraz ich właściwości lecznicze wraz ze wskazaniem przykładów nazw handlowych leków, w których składnikiem jest dany profen, zestawiono w poniższej tabeli 1 [9,10].

Tabela 1. Struktury wybranych profenów oraz ich działanie terapeutyczne [9,10].

profen	działanie/preparat
 <p>naproksen</p>	<p>Działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe, przeciwartretyczne, przeciwreumatyczne, przeciwgorączkowe, przeciwagregacyjne.</p> <p>Stosowany w leczeniu chorób reumatycznych i skazy artretycznej. Znosi bóle stawów i kości oraz bóle pourazowe.</p>

	Aleve, Anapran, Apo-Naproxen, Apranax, Naproxen, Natrax, Pabi-Naproxen, NAXII
 <p>flurbiprofen</p>	<p>Silne działanie przeciwzapalne, przeciwagregacyjne, przeciwgorączkowe, przeciwbólowe. Zapobiega zwężeniu źrenicy oka podczas operacji okulistycznych. Stosowany w leczeniu chorób przeziębieniowych, chorób reumatycznych, stanów zapalnych mięśni, ścięgien, tkanki podskórnej.</p> <p>Ansaid, Flugalin, Inflaflur, Ocufer, Strepsils Intensive, Tantum Activ Gola</p>
 <p>ibuprofen</p>	<p>Działa przeciwbólowo, przeciwzapalnie, przeciwgorączkowo, przeciwreumatycznie. Zapobiega zlepianiu krwinek, wydłuża czas krwawienia. Stosowany w leczeniu chorób przeziębieniowych, objawów chorób zakaźnych, w leczeniu chorób reumatycznych i bólów różnego pochodzenia.</p> <p>Bolinet, Brufen, Ibalgin, Ibufen, Ibum, Ibuprom, Nurofen</p>
 <p>fenoprofen</p>	<p>Stosowany w leczeniu chorób przeziębieniowych, zaburzeń mięśni szkieletowych, stawów i tkanek okołokostnych oraz bólów różnego pochodzenia.</p> <p>Expron, Fenopron, Fepron, Feprona, Nalfon</p>
 <p>ketoprofen</p>	<p>Silne działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe, przeciwgorączkowe. Stosowany w leczeniu objawowym zmian zapalnych i zwyrodnieniowych w schorzeniach reumatycznych, oraz w łagodzeniu niektórych zespołów bólowych.</p> <p>Bi-Profenid, Fastum, Ketonal, Ketoprofen, Ketoprom, Ketopronil, Ketospray, Profenid</p>

2.2.1. Działanie profenów

Profeny należą do szerokiej, niejednorodnej grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ). Nazywane są niesteroidowymi ze względu na strukturę, odmienną od innych leków mających właściwości przeciwzapalne- kortykosteroidów. Działanie profenów polega na hamowaniu cyklooksygenazy prostaglandynowej (COX). Enzym ten odpowiedzialny jest za powstawanie związków chemicznych będących miejscowymi informatorami komórkowymi. Katalizując przemiany fosfolipidów błony komórkowej, COX prowadzi do powstawania z kwasu arachidonowego prostanoidów (m. in. prostaglandyn), zaliczanych do dużej grupy hormonów tkankowych regulujących procesy fizjologiczne [11]. COX występuje w trzech odmianach izomerycznych, zwanych COX-1, COX-2 oraz COX-3. Pierwsza z nich występuje w warunkach fizjologicznych i jest stale produkowana przez większość komórek. COX-1 reguluje prawidłowe procesy komórkowe i jest stymulowana przez hormony i czynniki wzrostu. Enzym ten bierze udział w syntezie prostaglandyn niezbędnych m. in. do prawidłowej pracy układu pokarmowego i krwionośnego człowieka [12]. COX-2 jest aktywowana pod wpływem czynników związanych ze stanem zapalnym [3], występuje również w nerkach, w ośrodkowym układzie nerwowym oraz układzie rozrodczym kobiet [13]. Izomer COX-3 jest odmianą COX-1 [14], którego obecność stwierdzono w mózgu [15,16].

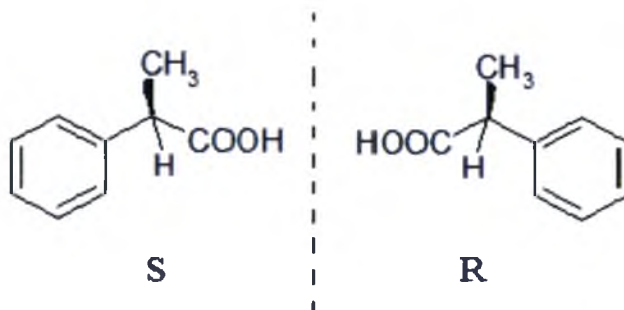
Prostanoidy są istotnymi czynnikami zaangażowanymi w przebieg procesów zapalnych, inhibicja cyklooksygenazy przez profeny uniemożliwia ich syntezę, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia objawów gorączki, obrzęków i bólu [17]. Hamowanie aktywności formy COX-2 zmniejsza przyczyny nasilające procesy zapalne, jednakże równoczesne hamowanie aktywności drugiej formy cyklooksygenazy COX-1, mającej działanie ochronne, skutkuje występowaniem działań niepożądanych (uszkodzenie błony śluzowej przewodu pokarmowego, krwawienia z przewodu pokarmowego, zaburzenia przepływu krwi przez nerki, a nawet perforacja żołądka i jelit) [18,19]. Przewaga profenów nad salicylanami (np nad aspiryną), które również zaliczane są do grupy leków NLPZ, polega na hamowaniu działania jedynie formy COX-2 cyklooksygenazy (Rys. 5) [20], co częściowo eliminuje efekty uboczne występujące podczas stosowania leku [21,22].



Rys. 5. Kompleks COX-2 z inhibitorem- flurbiprofenem [20].

2.2.2. Chiralność profenów

Profeny posiadają chiralny atom węgla w pozycji α reszty propionianowej. Występują więc w dwóch formach enancjomerycznych (Rys. 6), które różnić się mogą znacząco właściwościami farmakologicznymi oraz farmakokinetycznymi, metabolizmem a także działaniem toksykologicznym [23].



Rys. 6. Enancjomery kwasu 2-fenylopropionowego.

Wszystkie profeny, z wyjątkiem naproksenu, dostępne są w handlowo w postaci racemicznej. Metody bezpośredniego rozdzielania enancjomerów profenów stanowią przedmiot szczególnego zainteresowania, gdyż ich przeciwzapalne i przeciwbólowe działanie przypisuje się niemal wyłącznie enancjomerowi (S).

Badania *in vivo* wykazały istnienie w organizmach ssaków izomerazy (2-arylopropionyl-CoA epimerazy), przekształcającej (R)-ibuprofen w aktywny







enancjomer S [24-26]. Z tej przyczyny oraz ze względu na kosztowny proces uzyskiwania czystego enancjomeru S, większość preparatów handlowych zawiera oba enancjomery. In vivo profeny mogą ulegać jednokierunkowej inwersji konfiguracji od enancjomeru R do S, jednakże możliwy jest również proces przeciwny [23,27,28]. Z tej przyczyny konieczne staje się rozdzielanie enancjomerów. Stosowanie aktywnego enancjomeru zamiast mieszaniny racemicznej, oprócz polepszenia selektywności i skuteczności leku, przynosi wiele innych korzyści [29-32].

2.2.3. Preferencyjna krystalizacja

Synteza enancjomerycznie czystych substancji ma istotne znaczenie praktyczne w szczególności dla farmaceutyków, które co raz częściej wymagają rejestrowania i dopuszczania na rynek w formie czystych enancjomerów. Krystalizacja jest efektywną metodą otrzymywania materiałów enancjomerycznie czystych, zapoczątkowywaną przez Ludwika Pasteura, który zdołał za pomocą pęsety i szkła powiększającego rozdzielić enancjomorficzne kryształy winianu amonowo-sodowego [33].

Preferencyjna krystalizacja jest jedną z najatrakcyjniejszych metod dostępnych w technologii rozdziału racematów. Metoda ta polega na alternatywnym zarodkowaniu małą ilością kryształów odpowiedniego enancjomeru do przesyconego roztworu racematu dając zamiennie duże ilości pożądanego enancjomeru [34]. Obecnie proces ten stosowany jest na skalę przemysłową jako efektywna i ekonomiczna metoda rozdziału racemicznych konglomeratów [35,36]. Metoda ta jest również atrakcyjna pod względem otrzymywania czystych enancjomerów z roztworów związków racemicznych wzbogaconych jednym z enancjomerów. Produkty otrzymane w trakcie preferencyjnej krystalizacji mogą być bezpośrednio wykorzystane w produkcji farmaceutyków, składników żywności czy chemikaliów. Warunkiem rozdziału związku racemicznego poprzez preferencyjną krystalizację jest występowanie formy konglomeratu, czyli jednej z trzech krystalicznych postaci, w jakiej może występować racemat (Rys. 7).

Odmiany racemiczne

związek racemiczny	mieszanina racemiczna (konglomerat)	racemiczny roztwór stały
		
		

Rys. 7. Odmiany krystaliczne racematów [34].

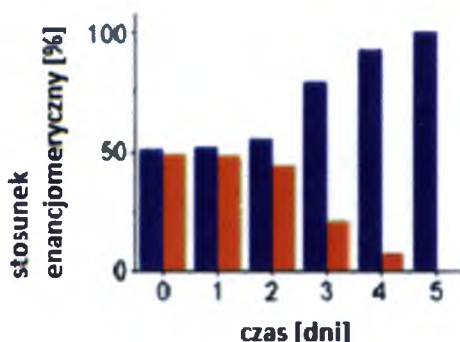
Większość racematów krystalizuje w postaci związku racemicznego. Mniej niż 10 % wszystkich znanych racematów krystalizuje w formie konglomeratów [37,38]. Rozdział optyczny konglomeratów ma 150-letnią historię, ale obecnie znanych jest tylko 240 konglomeratów [39]. Jak pokazano na rysunku 7, konglomerat jest mieszaniną kryształów obu enancjomerów.

Dodając niewielką ilość kryształów jednego z enancjomerów konglomeratu, na przykład kryształów (-) jako zarodków, doprowadza się do utworzenia przesyconego roztworu konglomeratu, w którym enancjomer (-) jest w znacznej przewadze. W kolejnym etapie, dodając niewielką ilość kryształów enancjomeru (+) do przesyconego roztworu przygotowanego z przesączu konglomeratu, można uzyskać drugi enancjomer w dużej ilości. Tak więc z racematu można otrzymać oba enancjomery poprzez alternatywne zarodkowanie.

Rozdział enancjomerów przez krystalizację jest o wiele bardziej atrakcyjny, gdy zachodzi z jednoczesną racemizacją niechcianego enancjomeru. Połączenie krystalizacji z racemizacją w roztworze nazywa się całkowitym spontanicznym rozdziałem [40],

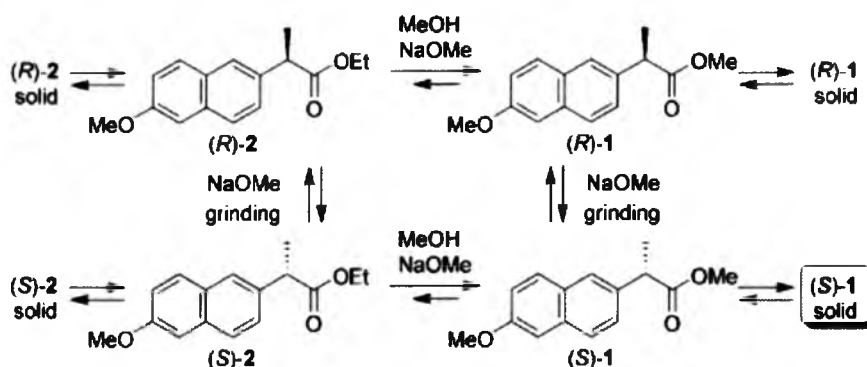
gdzie do klarownego przesyconego roztworu, w którym zachodzi racemizacja wprowadza się enancjomerycznie czyste kryształy. Zarodki kryształów rosną dalej, co prowadzi do wzrostu ilości stałego wprowadzonego w nadmiarze enancjomeru, aż do momentu zaniku racematu w roztworze. W zasadzie cały chiralny materiał, który krystalizuje można przeprowadzić do pożądanego materiału [41-43].

Przykładem zastosowania procesu preferencyjnej krystalizacji jest rozdział naproksenu. Naproksen krystalizuje w formie związku racemicznego, nie dając się rozdzielić na enancjomery w sposób opisany powyżej. Jednak, co ciekawe, jego łatwe w syntezie estry, zarówno etylowy jak i metylowy, krystalizują w formie konglomeratów. Na rysunku 8 kolorem niebieskim zaznaczono pożądaný (S) enancjomer estru metylowego naproksenu. Widać, że już niewielki (1,5 %) jego nadmiar enancjomeryczny (w stosunku do enancjomeru (R) tego estru zaznaczonego na czerwono) skutkuje całkowitą deracemizacją roztworu i uzyskaniem pożądanego enancjomeru w stosunkowo krótkim czasie 5 dni.



Rys. 8. Wykładniczy wzrost ilości (S)-estru metylowego naproksenu (kolor niebieski) kosztem enancjomeru (R) (kolor czerwony) [43].

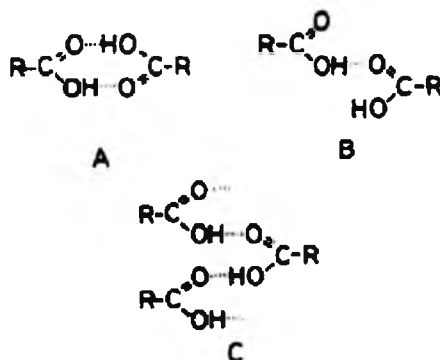
Na poniższym schemacie (Rys. 9) przedstawiono technikę deracemizacji połączoną z transestryfikacją, dzięki której również otrzymać można pożądaný (S) enancjomer naproksenu [44,45].



Rys. 9. Równowaga chemiczna i fizyczna podczas jednoczesnej transestryfikacji i deracemizacji racemicznego związku 2 do czystego enancjomeru związku 1 [43].

2.2.4. Budowa profenów- dimeryzacja

Profeny, jako kwasy karboksylowe, tworzą dimery co oznacza, że dwie cząsteczki kwasu związane są ze sobą dwoma wiązaniami wodorowymi. Cząsteczki kwasów karboksylowych są polarne i mogą tworzyć wiązania wodorowe pomiędzy sobą lub innymi cząsteczkami. Możliwe jest utworzenie dimerów cyklicznych, liniowych oraz polimerów. Najbardziej rozpowszechnionym motywem wśród monokarboksylowych związków chiralnych są dimery cykliczne (Rys. 10) [46,47].



Rys. 10. Rodzaje asocjacji kwasów karboksylowych: A- dimer cykliczny, B- dimer liniowy, C- multimer.

Pochodne kwasu 2-fenylopropionowego- profeny- swoją budową strukturalną w formie dimerów przypominają makroskopowe śmigła [48] jak pokazano na rysunku 1 we wprowadzeniu do niniejszej pracy.

2.3. Śmigła molekularne

W nanotechnologii termin molekularnego śmigła odnosi się do cząsteczki, która składa się z dwóch części, które mogą łatwo obracać się względem siebie lub innych makroskopowych obiektów [1].

Część molekuly o większym momencie bezwładności powszechnie określana jest jako stator, natomiast część charakteryzująca się mniejszą bezwładnością nazywa się rotatorem. Rotator jest tym elementem cząsteczki lub układu, który obraca się względem pozostałej- stacjonarnej części. Fragment molekuly utrzymujący rotujący element, lub na którym wykonywany jest obrót, nazywany jest osią (Rys. 11).



przykładowy nanowirnik (związany na powierzchni)



rotator



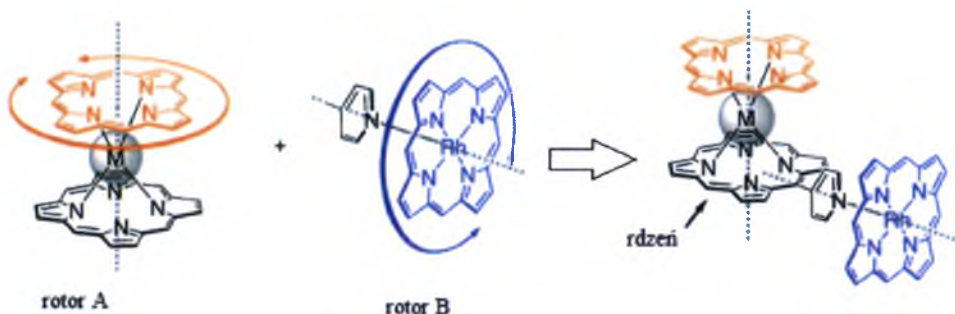
stator



oś

Rys. 11. Ilustracja poszczególnych elementów wirnika molekularnego [1].

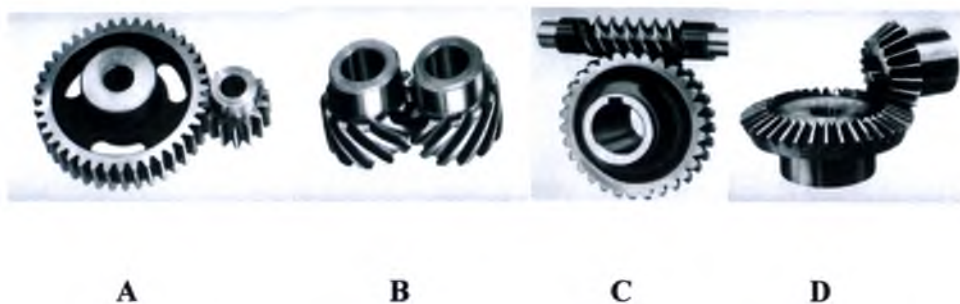
Uogólniając, można powiedzieć, że śmigła molekularne to szeroka grupa związków składających się z dwóch lub więcej części ułożonych w śrubowy sposób względem centralnego rdzenia [49]. Rysunek 12 przedstawia schemat śmigła molekularnego opartego na bazie pierścieni porfirynewych składającego się z dwóch rotorów (górny- czerwony oraz boczny- niebieski), ułożonych niemal prostopadle względem siebie, połączonych za pomocą rdzenia [50].



Rys. 12. Schemat śmigła molekularnego zbudowanego z dwóch rotorów A i B [50].

2.3.1. Analogia z obiektami makroskopowymi

Koncepcja urządzeń (maszyn) molekularnych opiera się na prostym odwzorowaniu analogicznych obiektów makroskopowych. Stosuje się przy tym pełną analogię z układami makroskopowymi. Istnieją cztery główne klasy napędów: zębate koła walcowe (A), zębatki stożkowe (B), przekładnie ślimakowe (C), spiralne i śrubowe koła zębate (D) (Rys. 13). Pierwsza grupa jest najprostsza i najczęściej stosowana w urządzeniach napędowych, efektywność urządzeń zawierających tego typu zębatki jest największa i sięga 99 % [48].

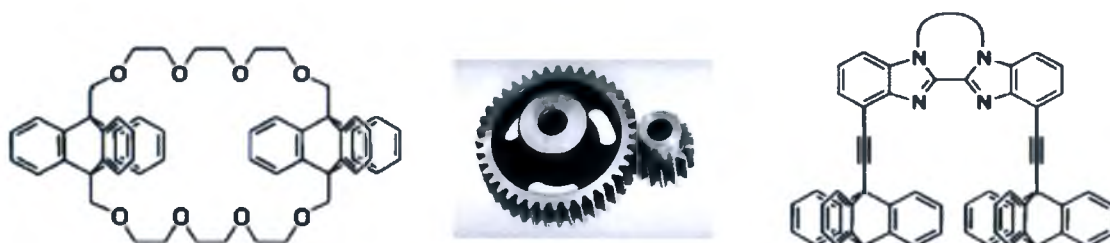


Rys. 13. Rzeczywiste typy zębatek [51].

W nanoskopowych systemach sprawą dyskusyjną jest odróżnienie poszczególnych układów od siebie, jednakże skrętność pojedynczych molekularnych „zębów” może służyć do ich rozróżniania na poszczególne typy (Rys. 14, Rys. 15) [49,50,52,53].

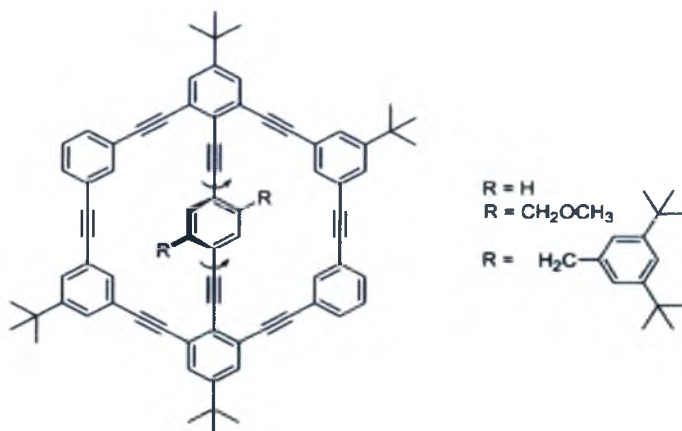


Rys. 14. Molekularne zębaki typu ślimakowego [49,52].



Rys. 15. Molekularne zębaki typu stożkowego [53].

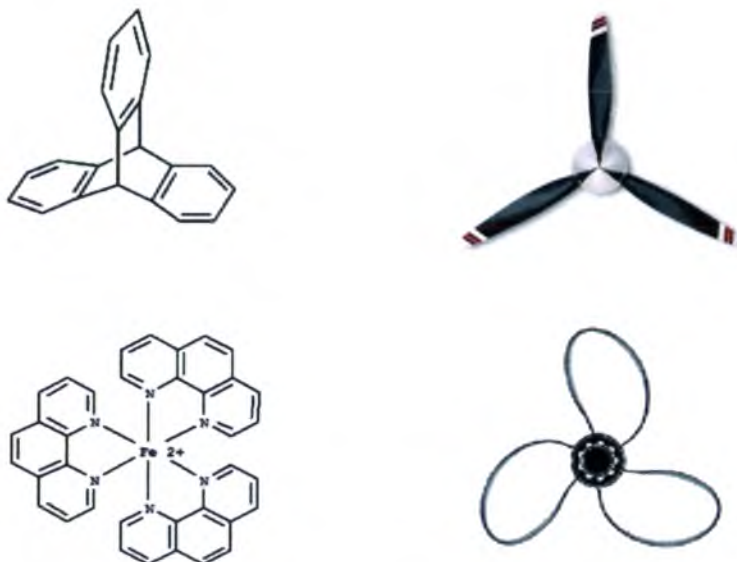
Molekularne urządzenia zdolne do wykonywania pracy mechanicznej istnieją jako molekularne łożyska, hamulce, koła zębate, zapadki, przełączniki czy kołowrotki (Rys. 16) [48,55].



Rys. 16. Molekularne śmigło typu kołowrotka [55].

Poszczególne elementy układów śmigieł powiązane są ze sobą dzięki słabym oddziaływaniom takim jak wiązania wodorowe, oddziaływania van der Waalsa czy siły elektrostatyczne. Ciepło, siły mechaniczne, aktywacja chemiczna lub fotochemiczna, przepływ płynów, ruch pary wodnej, przeniesienie protonu lub elektronu, tunelowanie elektronów mogą stanowić siłę napędową wywołującą ruch [53-57].

Rysunek 17 przedstawia cząsteczki triptycenu (1) oraz fenantroliny (2) będące analogami makroskopowych obiektów, takich jak śmigła wiatraka lub samolotu.

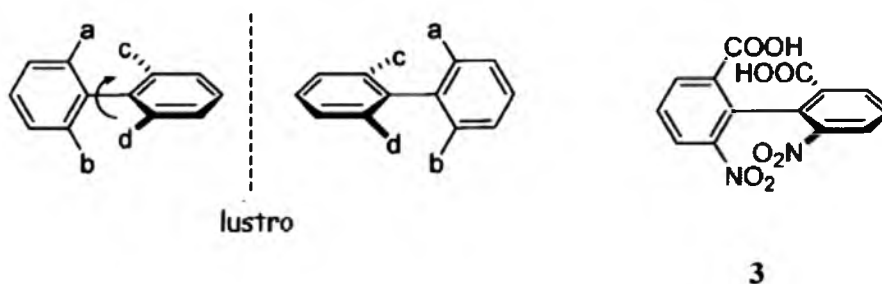


Rys. 17. Analogia struktury związków chemicznych do kształtu rzeczywistych śmigieł [58,59].

2.3.2. Rys historyczny

Na początku XX wieku chemicy stwierdzili, że cząsteczki nie muszą posiadać centrum stereogenicznego, żeby być chiralne. Ograniczenie swobody rotacji grup w cząsteczce może skutkować pojawieniem się dyssymetrii. Obecność centrum stereogenicznego w cząsteczce jest więc warunkiem wystarczającym, ale nie koniecznym, dla istnienia nienakładających się odbić lustrzanych danego związku i wykazywania chiralności.

Pierwszym eksperymentalnym przykładem były badania podstawionych bifenyli, gdzie rotacje względem pojedynczego wiązania są zahamowane. Zastanawiano się czy pierścienie w cząsteczce bifenyli są płaskie, czy skrzyżowane w stosunku do siebie ze względu na obecność przewyciężenia zawady sterycznej. Rozdzielenie enancjomerów bifenyli, po raz pierwszy dokonane za pomocą brucyny przez Christie i Kenner w kwasie 6,6'-dinitro-2,2'-bifenylodikarboksylowym (**3**), potwierdziło czynność optyczną molekuly (Rys. 18) [3,48].



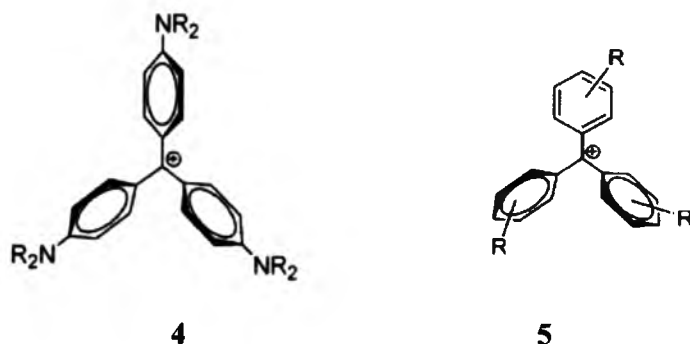
Rys. 18. Chiralność w bifenylach oraz pierwsza rozdzielona na enancjomery pochodna bifenylowa [48].

2.3.2.1. Atropoizomeria

Rodzaj stereoizomerii wywołanej zahamowaniem rotacji wokół pojedynczego wiązania nazywamy atropoizomerią. Ograniczenie swobody rotacji dookoła wiązania pozwala na wyodrębnienie izomerów konformacyjnych.

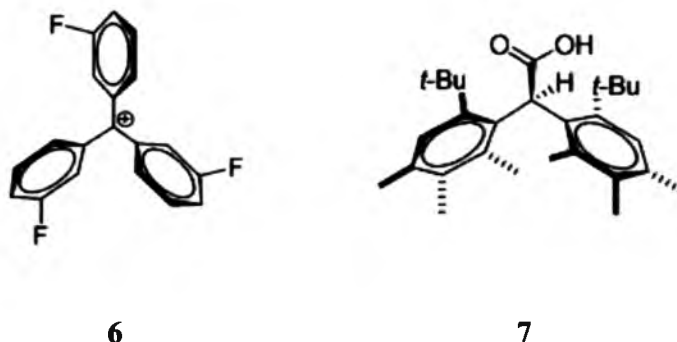
Odkrycie atropoizomerii doprowadziło do dalszych badań nad układami tego typu śmigieł. Pierwsze wzmianki o chiralnych cząsteczkach śmigieł pochodzą z lat siedemdziesiątych i osiemdziesiątych ubiegłego wieku [60-62], a bardzo szczegółowy przegląd tej tematyki znajduje się w rozdziale 8 monografii Wolfa [63].

Pierwszymi molekułami typu rotorów były pochodne karbokationu trityliowego. Początkowo proponowano dla niego strukturę śmigłową, w której poszczególne śmigła były skręcone w taki sam sposób (4). Dalsze badania nad pochodnymi tego jonu wykazały bardziej prawdopodobną strukturę przypominającą śmigło samolotu, gdzie jeden z pierścieni jest płaski, a kolejne dwa są skręcone (5), jak pokazano to na rysunku 19.



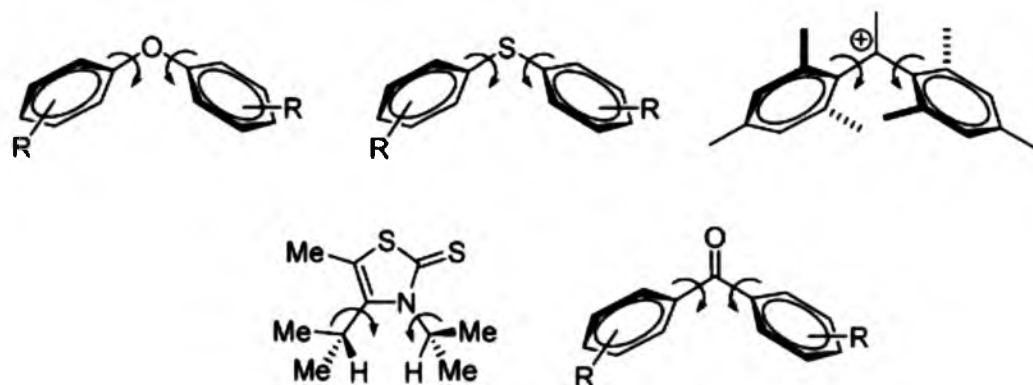
Rys. 19. Dawne propozycje stereochemii dla układów typu śmigłowego [48].

Definitywny dowód skręconej budowy dała dopiero spektroskopia NMR. Pomiary temperaturowe ^{19}F NMR orto- i para- fluoro podstawionego jonu trityliowego (6) (Rys. 20) potwierdziły śmigłową budowę i wewnętrzną przemianę stereoizomerów, gdzie jeden (lub więcej pierścieni) obraca się prostopadłe do płaszczyzny zawierającej centralny węgiel i związane z nim trzy węgle fenyłowe (płaszczyzna odniesienia), a pozostały pierścień (pierścienie) przechodzi przez płaszczyznę odniesienia. Szybko odkryto konformacje śmigłowe dla kolejnych grup związków, z których związek (7) jest pierwszym przykładem chiralnego rozdziálu za pomocą chromatografii [48].



Rys. 20. Wczesne układy śmigłowe [48].

Wkrótce po odkryciu struktur śmigłowych naukowcy zaczęli dostrzegać, że rotacja jednej części związku może wywołać ruch innej części w powiązany sposób. Doprowadziło to do odkrycia związków typu mechanicznych przekładni. Pierwsze z nich przedstawia poniższy rysunek (Rys. 20).

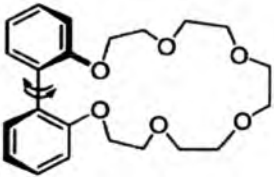
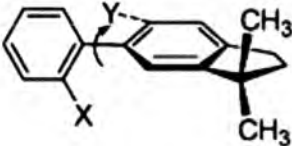
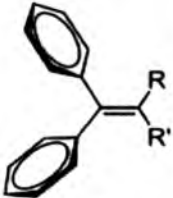
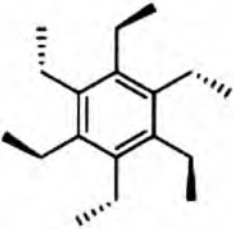
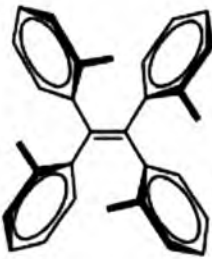


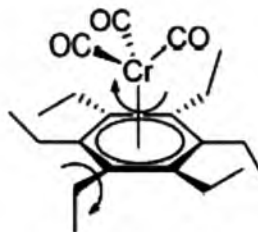
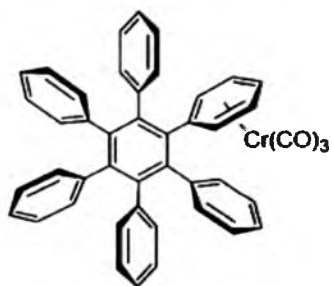
Rys. 21. Struktury pierwszych układów pełniących rolę molekularnych przekładni [48].

2.3.3. Różnorodność związków wykazujących rotacje

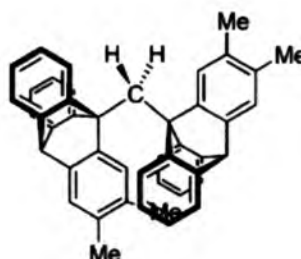
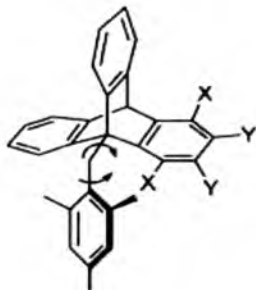
Dalsze lata badań doprowadziły do wyodrębnienia różnych typów układów rotujących w wielu klasach związków chemicznych. Wśród nich wyróżnić można bifenyle, areny, tryptyceny, amidy aromatyczne, porfiryny, układy organometaliczne, nieorganiczne, wszelkiego typu kompleksy, metaloceny, nanotuby czy fullereny [48-50,52-57,64-67]. W poniższej tabeli (Tabela 2) zestawiono przykłady niektórych rodzajów związków wykazujących określony typ rotacji, wykazujących tym samym podobieństwo do makroskopowych układów obrotowych.

Tabela 2. Przykładowe śmigła molekularne [48-50,52-57,64-67].

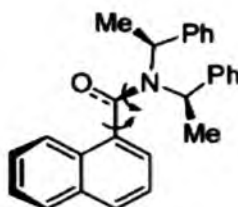
Klasa związku chemicznego oraz przykładowa struktura
<p style="text-align: center;">Bifenyle</p>
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">   </div>
<p style="text-align: center;">Węglowodory aromatyczne</p>
<div style="text-align: center;">  <p>$R = H, OH, Ar$</p> </div>
<p style="text-align: center;">Podstawiony benzen</p>
<div style="text-align: center;">  </div>
<p style="text-align: center;">Pochodne etenu</p>
<div style="text-align: center;">  </div>
<p style="text-align: center;">Związki organometaliczne różnego typu</p>



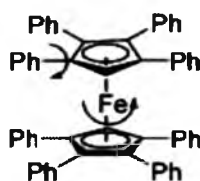
Pochodne triptycenu



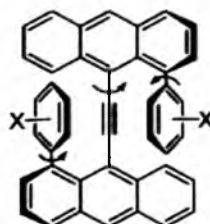
Amidy aromatyczne


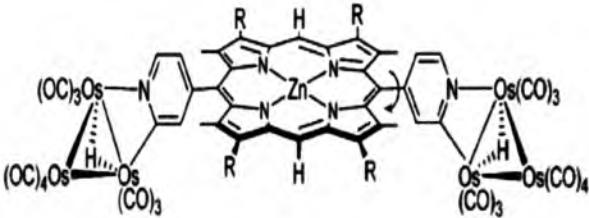
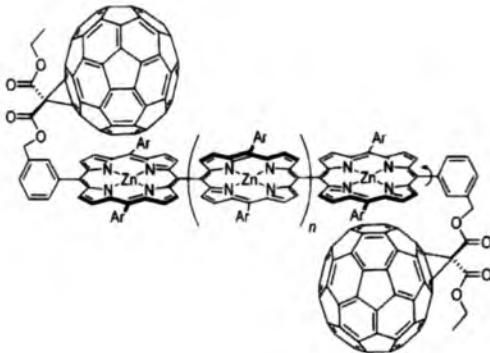


Metaloceny



Związki z wiązaniem potrójnym



Kompleksy

Pochodne porfiryne

Układy fulleren/porfiryna


2.3.4. Wybrane właściwości śmigieł molekularnych

Mistrzem w wytwarzaniu niezliczonych nanoskopowych źródeł energii i mechanizmów jest natura. Celem współczesnych naukowców jest odkrycie działania tych mechanizmów oraz wykorzystanie tej wiedzy do tworzenia sztucznych analogów będących źródłem nowych nanotechnologii.

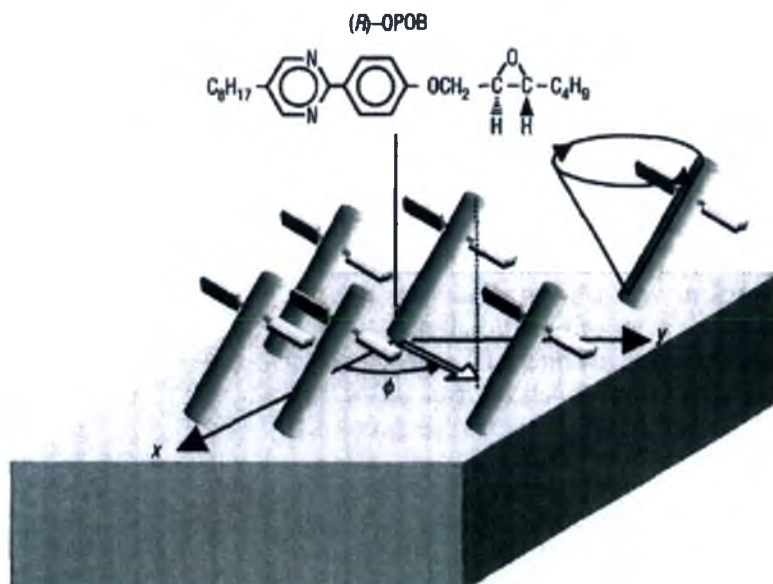
Wykrywanie, kontrola oraz możliwości zastosowania ruchu rotacyjnego w cząsteczkach są dziś tematem zainteresowania wielu naukowców z różnych dziedzin w tym chemii, fizyki, nauki o materiałach, biologii oraz medycyny a także inżynierii, ze względu na

możliwość szerokiego zastosowania związków wykazujących obrotowe właściwości w wielu dziedzinach życia [68-72].

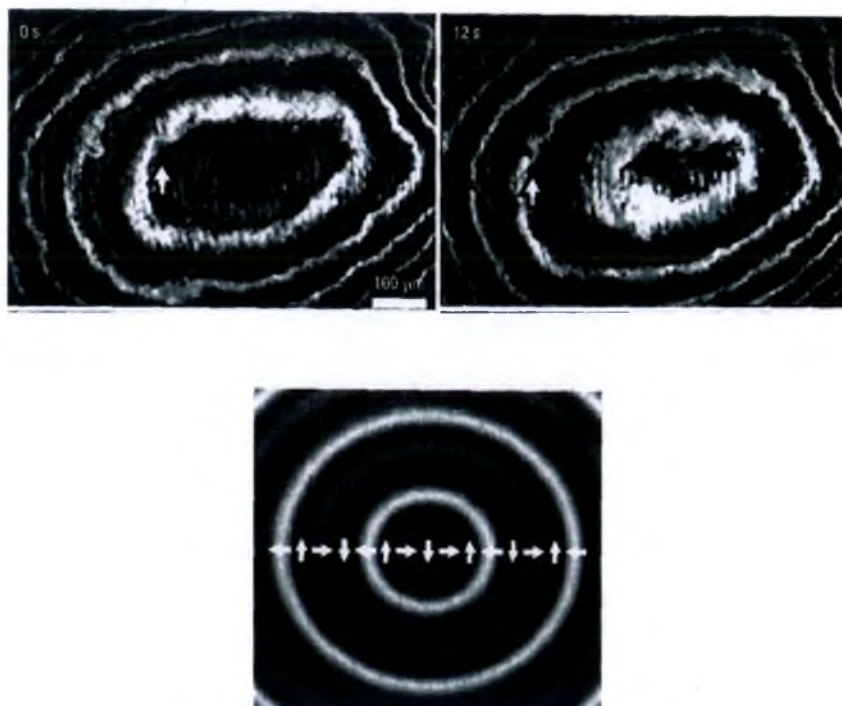
2.3.5. Efekty związane z transportem śmigieł molekularnych

Synteza rotorów molekularnych jest obecnie bardzo popularna i nie stanowi większego problemu [73-81]. Jednak syntetyczne śmigła molekularne, w porównaniu z systemami naturalnymi, takimi jak niektóre białka [82-85] są mniejsze, a zatem podlegają fluktuacjom termicznym, które jak się uważa uniemożliwiają wykazywanie przez nie jakichkolwiek użytecznych funkcji [86]. Istotne jest znalezienie mechanizmu pozwalającego na wzmocnienie pojedynczego ruchu molekularnego cząsteczek do takiego poziomu, by stał się on odróżnialny na tle fluktuacji termicznych. Kondensacja związków będących rotorami molekularnymi do faz o umiarkowanym uporządkowaniu, takich jak ciekłe kryształy, jest ciekawym sprawdzonym podejściem, które wspomaga ruchy cząsteczkowe [87-89].

W literaturze znane są efekty gdzie śmigła molekularne napędzane są przez różnego rodzaju przepływy [90]. Wpływ transportu cząsteczek wody na samoorganizację makromolekuł stanowi przykład gdzie strumień cząsteczek indukuje przebieg zjawisk na granicy faz. Warstwa chiralnych ciekłych kryształów rozpuszczonych w chloroformie, stanowiąca skondensowaną warstwę śmigieł molekularnych, rozprowadzona na powierzchni glicerolu, w skutek migracji cząsteczek wody między powietrzem a glicerolem, ulega koherentnej zbiorowej precesji (ang. coherent collective precession- CCP) (Rys. 22), tworząc na powierzchni samoorganizującą się warstwę rotujących cząsteczek, czemu towarzyszy pojawienie się zmieniających się w czasie wzorów (Rys. 23) podobnych do tych obserwowanych w reakcji Bielousowa-Żabotyńskiego [91].



Rys. 22. Cząsteczki o wydłużonym kształcie są spójnie przechylone w stosunku do powierzchni pod stałym kątem nachylenia. Para małych skrzydeł, związanych z cząsteczkami reprezentuje grupy chiralne, wskazując znaczenie chiralnych śmigieł w obserwowanym efekcie [90].

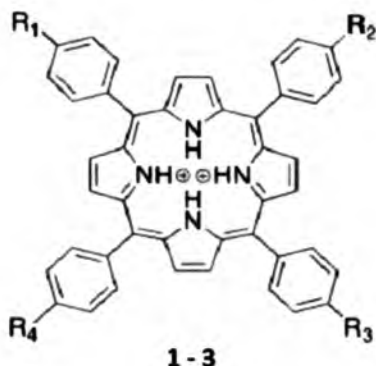


Rys. 23. Sekwencyjnie zmieniające się w czasie wzory powstające wskutek rotacji warstwy chiralnych cząsteczek na powierzchni glicerolu [90].

Badania tego typu wzorów powstających w fazach umiarkowanie uporządkowanych są niezbędne dla zrozumienia działania komórek biologicznych [92]. Błony biologiczne są ściśle związane z monowarstwami Langmuira. Także membrany zawierające ułamek cząsteczek chiralnych, w odpowiednich warunkach, powinny wykazywać podobne zachowanie. Przepływ w takich systemach odbywa się pod wpływem gradientu stężeń małych cząsteczek lub jonów, które przenikają przez membranę [93]. Błony biologiczne mogą wykazywać oscylacje kształtu oraz tworzyć fale [94,95]. Przenikanie cząsteczek może powodować przejście warunków nierównowagowych, powodując powstawanie podróżujących fal i samoorganizujących się złożonych wzorów membrany. Co ważne, chiralne cząsteczki mogą być transportowane i przestrzennie rozprowadzane w membranie w wyniku rozchodzenia się fal [93]. Jeśli membrana zawiera rotory molekularne oddziaływania między nimi mogą prowadzić do rozwoju regularnych uporządkowanych układów [96]. Ściśle związane z błonami biologicznymi, monowarstwy Langmuira tworzone są przez tłuszcze lub cząsteczki amfifilowe umieszczone na granicy faz ciecz-gaz [97]. Wzory nierównowagowych wędrujących fal w podświetlanych monowarstwach Langmuira badano teoretycznie i eksperymentalnie. Badania z wykorzystaniem mikroskopii polaryzacyjnej wykazały, że zjawisko precesji nie jest jednolite i pozwoliły zaobserwować powstawanie złożonych wzorów. Efekt CCP wydaje się być uniwersalny i został potwierdzony dla kilku chiralnych związków chemicznych w różnych warunkach doświadczalnych [89,90,98-100].

Zjawiska chemiczne zachodzące w wyniku działania przepływu są również tematem zainteresowania mechanochemii, której kierunkiem badań jest wyjaśnianie przebiegu zjawisk na poziomie nanoskali [101]. W przypadku makrocząsteczek i cząstek koloidalnych przepływ płynu odgrywa kluczową rolę w doborze struktur równowagowych, pozwalając osiągnąć stany przejściowe, poprzez zmianę ścieżek kinetycznych [102-104]. Mimo braku doświadczalnych dowodów uważa się, że wzorcowy przykład wpływu przepływu na strukturę cząsteczki stanowi udział wody w fałdowaniu białek [103]. Przepływy są także istotne w procesie samoorganizacji struktur supramolekularnych. Prędkość strumienia przepływu może poruszać, ustawiać i obracać zanurzone w płynie cząsteczki. Chiralny przepływ ukierunkowuje cząsteczki tym samym indukując w nich chiralność. Utworzenie chiralnych struktur przez samoorganizujące się cząsteczki możliwe jest dzięki zastosowaniu powolnej ewaporacji rotacyjnej ich roztworów. Literatura szeroko opisuje zjawisko korelacji znaku

dichroizmu kołowego CD tworzących się agregatów badanych związków z kierunkiem obrotów, np. wyparki [105-108,110]. Jednym z przykładów cząsteczek zaliczanych do grupy śmigieł molekularnych i wykazujących jednocześnie efekt mechanochiralny są porfiryny (Rys. 24) [109,111-113]. Warto w tym miejscu dodać, że w literaturze nie łączy się śmigłowego kształtu porfiryny z jej zdolnością do tworzenia chiralnej samoorganizacji podczas rotacyjnego transportu masy.



związek	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	H	H	H	H
2	SO ₃ ⁻	SO ₃ ⁻	SO ₃ ⁻	H
3	SO ₃ ⁻	SO ₃ ⁻	SO ₃ ⁻	SO ₃ ⁻

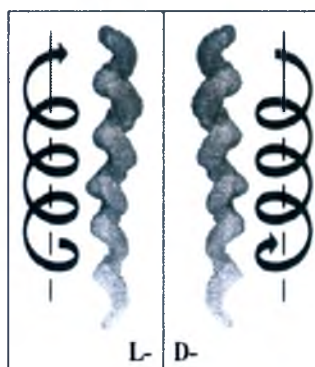
Rys. 24. Monomery związków 1-3 tworzących agregaty wykazujące efekt mechanochiralny [118].

Zmianę w skręcalności właściwej badanych związków uzyskać można także dzięki zastosowaniu mieszania magnetycznego w różnych kierunkach [109,114,115]. Zmiana kierunku przepływu będącego wirem wytworzonym podczas mieszania prowadzi do utworzenia struktur o różnym charakterze uporządkowania [116,117]. Warto też dodać, że wyniki omawianych tu prac długo były kwestionowane. Ich autorzy pokonać musieli wiele trudności zanim wyniki badań zostały potwierdzone i opublikowane.

Pomeau opisał teoretyczne podstawy zjawiska transportu optycznie czynnych płynów, które może być wykorzystane do rozdziału mieszaniny racemicznej na enancjomery [118,119].

W układach optycznie czynnych płynów, zawierających cząsteczki prawo- i lewoskrętne, możliwa jest obecność dwóch rodzajów przepływów.¹

Występowanie tych przepływów można wykorzystać do rozdzielenia racematu na enancjomery. Działając na mieszaninę racemiczną dwoma prostopadłymi wektorami pól, można wywołać w płynie przepływ, który będzie oddzielał dwa izomery optyczne, w kierunku prostopadłym do przyłożonych sił. Działanie takiego systemu można prosto opisać za pomocą czynnych optycznie cząsteczek, typu śrub Archimedesesa. Rozmiar tych śrub jest wystarczająco duży w stosunku do długości cząsteczek rozpuszczalnika, dzięki czemu ich wzajemne oddziaływania są dobrze opisane przez zasady hydrodynamiki. Przyłożenie statycznego pola elektrycznego wzdłuż kierunku z, spowoduje obrót śruby wokół osi z, a znak tej rotacji będzie uzależniony od kierunku skręcenia śruby (Rys. 25).



Rys. 25. Schematyczny ruch (strzałka odpowiednio w górę i w dół) przeciwnie skierowanych wiązków chiralnych (L i D) pod wpływem przyłożonego pola elektrycznego [120].

¹ Współczynniki fenomenologiczne α_{ij} i β w równaniach, zależne od działania sił termodynamicznych oraz przepływów, zmieniają swój znak w zależności od tego, którego enancjomeru dotyczą.

$$\begin{cases} \vec{J} = \alpha_{i,j} \vec{F}_i \wedge \vec{F}_j \\ \vec{J} = \beta \nabla \wedge \vec{v} \end{cases}$$

Zgodnie z efektem Magnusa dla obracających się śrub pojawi się dodatkowy wektor prędkości translacyjnej skierowany wzdłuż osi x , którego znak zależy od kierunku obrotu, a tym samym od aktywności optycznej związku. Ta siła odpowiada za rozdział mieszaniny racemicznej [120]. Dotychczas nie zaobserwowano eksperymentalnie efektu Pomeau.

Opisane powyżej zjawiska wpływu przepływu na strukturę supramolekularną podnoszą istotną kwestię przepływów występujących w organizmach żywych oraz ich wpływu na stereochemię biologicznych makromolekuł oraz możliwe tego konsekwencje. Problemy takie przedyskutowano szeroko w publikacji [121].

3. Cel pracy

Celem pracy doktorskiej jest badanie efektów towarzyszących transportowi chiralnych profenów w fazie ciekłej i na granicy faz ciecz-ciało stałe oraz próba wyjaśnienia nietypowego zachowania profenów w przepływie.

W szczególności badaniom poddano grupę pochodnych kwasu propionowego, profenów, popularnych niesteroidowych leków o działaniu przeciwbólowym, przeciwzapalnym i przeciwgorączkowym, np. naproksen, ibuprofen, ketoprofen. Profeny wykazują szereg unikatowych właściwości jak krystalizacja w formie konglomeratów, racemizacja oraz inwersja konfiguracji w układach *in vivo* czy oscylacyjna zmiana skręcalności optycznej w roztworze [122]. Jednym z obserwowanych efektów jest także ich odchylenie boczne podczas migracji z rozpuszczalnikiem w chromatografii TLC oraz niestabilność pomiarów polarymetrycznych. Zjawiska te utrudniają analizę, opis i identyfikację profenów. Niniejsza praca doktorska obejmuje próbę wyjaśnienia tych efektów specyficzną budową określaną mianem rotoru chiralnego. Prowadzone badania w założeniu prowadzić powinny do odpowiedzi na pytanie, czy charakter chiralnego przepływu może mieć znaczenie dla tych efektów.

4. Badania własne

4.1. Cienkowarstwowa chromatografia profenów

Chiralne profeny od lat są obiektem badań prowadzonych w Zakładzie Chemii Ogólnej i Chromatografii [123-125]. Badając poszczególne enancjomery profenów metodą cienkowarstwowej chromatografii planarnej (TLC) niespodziewanie zaobserwowano efekt odchylenia od standardowych prostoliniowych torów migracji analitów z fazą ruchomą, zarówno na płytkach rozwijanych w pionie jak i poziomych. W tabeli 3 zestawiono wyniki otrzymane podczas wcześniejszych badań prowadzonych w Instytucie Chemii [126-134].

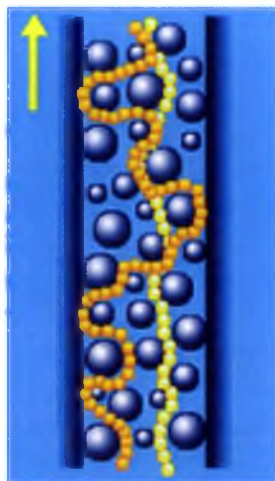
Tabela 3. Zestawienie wyników badań profenów prowadzonych w Zakładzie Chemii Ogólnej i Chromatografii [126-134].

Nr	analit	konfiguracja	maksymalne odchylenie (mm)	kierunek	R _f	Warunki TLC
1	ibuprofen	S	2	prawo	0,91	V/A/E
2	ibuprofen	R	2	lewo	0,88	V/A/E
3	kwaskwas 2-fenylopropionowy	S	5	prawo	0,90	V/A/E
4	kwaskwas 2-fenylopropionowy	R	2	lewo	0,80	V/A/E
5	ketoprofen	ND	3	prawo	0,93	V/SG/M
6	ketoprofen	ND	7	prawo	0,97	V/SG/M
7	ketoprofen	ND	0	brak	0,86	V/SG/M
8	naproksen	S	4	lewo	0,87	H/SG/E
9	naproksen	R	3	prawo	0,85	V/A/E
10	naproksen	S	3	lewo	0,89	V/A/E
11	naproksen	S	0	brak	0,65	V/D ² /E

² Koncepcja maskowania resztkowej chiralności SiO₂ przez izomer DL-argininy powstała jako część obecnej pracy doktorskiej.

Opis zastosowanych w tabeli 3 symboli: V- migracja pionowa; H- migracja pozioma; fazy stacjonarne: SG- żel krzemionkowy (SiO_2); A- SiO_2 impregnowany L-argininą; D- SiO_2 impregnowany DL-argininą; E- optycznie czysty analit, ND- nieokreślona konfiguracja analitu; M- analit rozdzielony w TLC (naniesiono racemat).

Zjawisko nieznacznego losowego odchylenia drogi migracji analitów od pionu znane jest od dawna i prawie wszechobecne w TLC. Odchylenia te powstają w związku z losowym ułożeniem cząsteczek adsorbentu (tzw. dyfuzja wirowa) (Rys. 27) [135]. Odchylenia te mogą różnić się na poszczególnych płytkach chromatograficznych zarówno kierunkiem odchylenia jak i jego wielkością. Jednakże zawierają się one w granicy do 1 mm, stąd odchylenia obserwowane w opisywanych wyżej eksperymentach muszą wynikać z innej przyczyny.



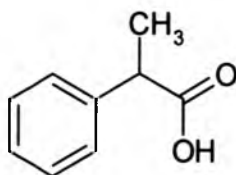
Rys. 27. Schemat dyfuzji wirowej cząsteczek wędrujących przez złożę adsorbentu [135].

W ramach niniejszej pracy doktorskiej powtórzono eksperymenty chromatograficzne dla naproksenu oraz kwasu 2-fenylopropionowego w celu potwierdzenia wcześniejszych wyników. Celem moich badań była próba wyjaśnienia obserwowanego efektu, który nazwałam bocznym odchyleniem chromatograficznym (LR-TLC) oraz zaproponowanie możliwego mechanizmu przebiegających procesów opartego na teorii śmigieł molekularnych. W tym celu do badań chromatograficznych użyłam szereg związków, których budowa strukturalna wykazuje podobieństwo do makroskopowych śmigieł.

Ponieważ w dotychczasowej literaturze brak jest systematycznej statystycznej analizy efektu LR-TLC w TLC, w niniejszej pracy doktorskiej przeprowadziłam wielokrotne powtórzenia eksperymentów TLC dla badanych związków.

4.2. Kwas (\pm)-2-fenylopropionowy

Badaniom TLC w szczególności poddałam kwas (\pm)-2-fenylopropionowy-najprostszy analog wszystkich profenów (Rys. 53). Eksperyment prowadzony był z użyciem różnych achiralnych faz ruchomych oraz zróżnicowanych faz stacjonarnych: czysty żel krzemionkowy, żel impregnowany DL-argininą lub L-argininą.



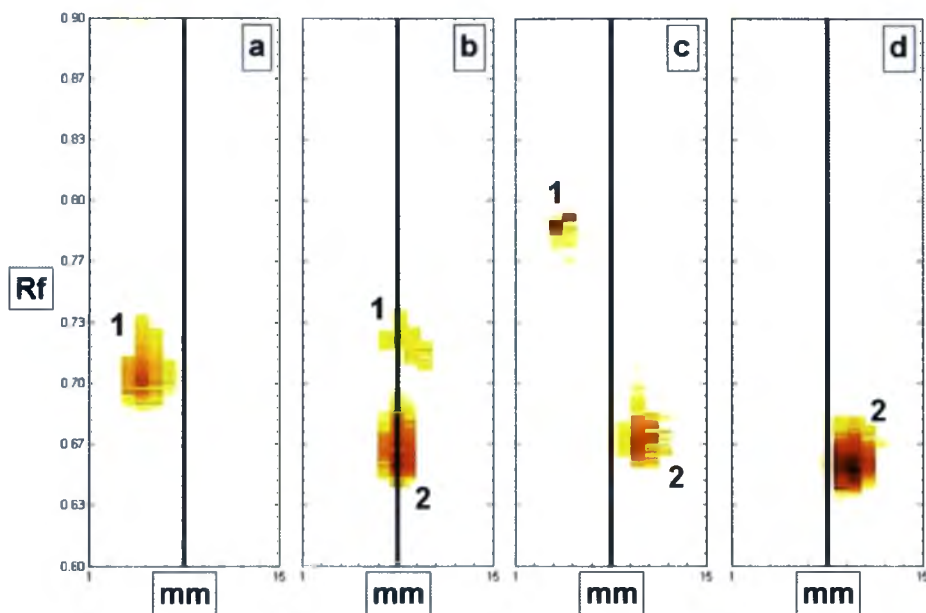
Rys. 28. Kwas (\pm)-2-fenylopropionowy.

Rozdzielenie racematu metodą chromatograficzną na poszczególne enancjomery możliwe jest jedynie w układzie chiralnym. W eksperymencie użyto układu chromatograficznego zaproponowanego przez Bhushana and Parshada [136] zastosowanego do rozdziału (\pm)-ibuprofenu. Czynnikiem chiralnym była L-arginina zaimpregnowana na płytkach pokrytych krzemionką.

W celu dokładniejszej analizy zachowań kwasu 2-fenylopropionowego w układach chromatograficznych dokonano także jego rozdziału na płytkach pokrytych czystym żelem krzemionkowym oraz żelem impregnowanym DL-argininą.

Wcześniejsze badania w Zakładzie Chemii Ogólnej i Chromatografii wykazują, że w roztworach wodnych i niewodnych aktywność optyczna profenów jest niestabilna, podlegając okresowym oscylacjom [122,123,137,138].

Na rysunku 29 przedstawiono cztery przykłady rozdziału enancjomerycznego kwasu 2-fenylopropionowego, uzyskanego na warstwie żelu krzemionkowego impregnowanego optycznie czystą L-argininą.



Rys. 29. Wybrane obrazy 2D plamek chromatograficznych kwasu (\pm)-2-fenylpropionowego rozdzielanego na płytkach SiO_2 pokrytych L-argininą utworzone z otrzymanych densytogramów.

Kwas 2-fenylpropionowy jest mieszaniną racemiczną enancjomerów (R) i (S), co jest widoczne na chromatogramach pokazanych na rysunku 29b i 29c. Rysunek 29b przedstawia pionowy rozdział enancjomerów kwasu bez bocznej relokacji. Plamka o wyższej wartości R_f (0,73) odpowiada enancjomerowi 1, a widoczna przy niższej wartości R_f (0,65) odpowiada enancjomerowi 2. Na rysunku 29c widoczne jest nie tylko pionowe, ale i boczne rozdzielanie enancjomerów. Odchylenie w prawą i lewą stronę można przypisać odpowiednio enancjomerom 1 i 2, R_f (0,79) enancjomer 1, a niższa wartość (0,67) enancjomer 2, który w tym przypadku przeważa ilościowo.

Interpretacja chromatogramów pokazanych na rysunku 29 nie jest prosta. Sugeruje, że w roztworze zachodzić może inwersja konfiguracji kwasu (Rys. 29a vs. 29d). Podobnie w rozdziale 29c obserwuje się boczne odchylenie enancjomerów, podczas gdy chromatogram 29b nie wykazuje takiego efektu.

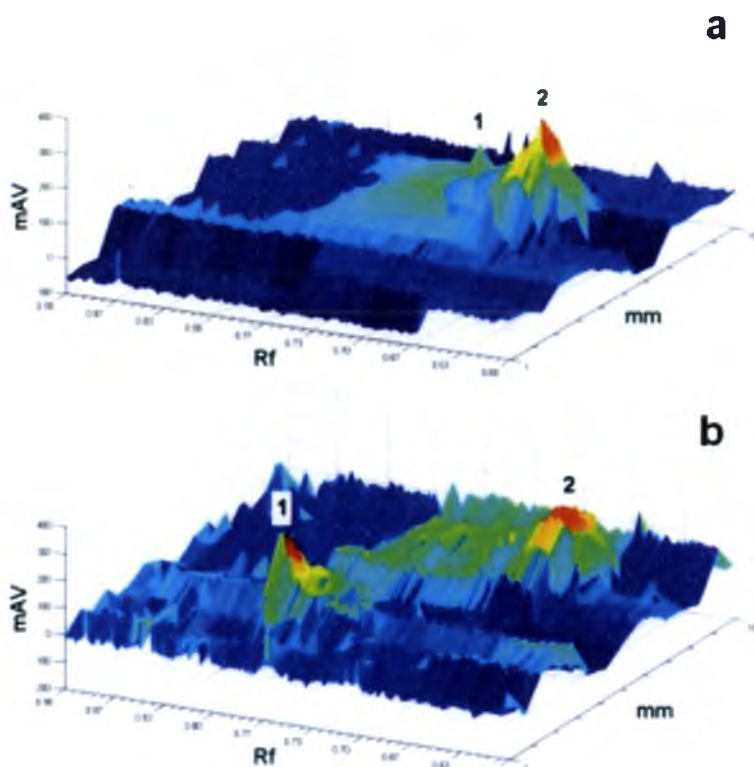
Alternatywną interpretację oprzeć można na hipotezie, że uzyskany obraz TLC odpowiada dimerom kwasu 2-fenylpropionowego. W układzie mieszaniny racemicznej tworzyć mogą się 3 dimery: RR, RS oraz SS. Równowagę w tym układzie przedstawia równanie:



Związane niekowalencyjnie agregaty dimerów mogą więc oscylować między trzema wyżej wymienionymi stanami, z których dwa są optycznie czynne RR i SS, a jeden jest układem mezo RS.

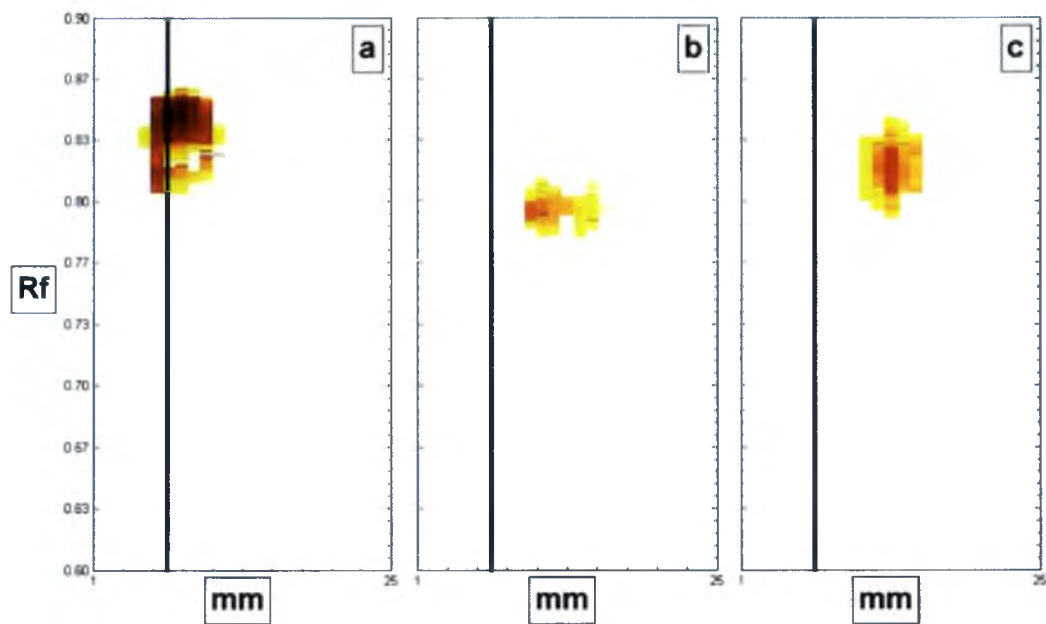
Szczególnie interesującym przypadkiem jest Rys. 29c, gdzie obserwuje się rzeczywisty rozdział poziomy lewo- prawo. Podobne obrazy TLC, w których pojawiają się 3 plamki chromatograficzne opisano w publikacjach [128, 130] dla (R,S)-ketoprofenu i kwasu (R,S)-2-fenylpropionowego.

W celu lepszego zilustrowania rozdziału poszczególnych enancjomerów bez bocznej przemieszczenia (Rys. 29b) oraz z lewo- i prawoskrętnym odchyleniem (Rys. 29c) na rysunku 30 zaprezentowano te same chromatogramy w postaci obrazów 3D wygenerowanych ze skanów densytometrycznych (odstęp skanów 1mm).



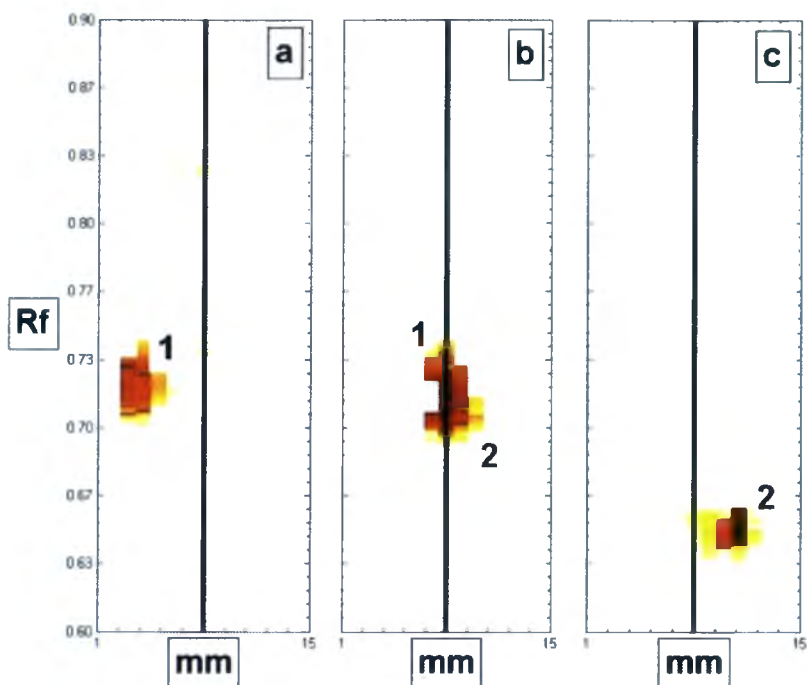
Rys. 30. Obrazy 3D chromatogramów odpowiednio z Rys. 29b i 29c.
a). pionowe rozdzielanie enancjomerów 1 i 2 bez bocznej relokacji; b). rozdział enancjomerów 1 i 2 z bocznymi odchyleniami.

Poniżej (Rys. 31) przedstawiono chromatogramy otrzymane na tradycyjnych, nieimpregnowanych płytkach pokrytych czystym żelom krzemionkowym. Nie obserwuje się tutaj rozdzielów pionowych, widać jednak efekt LR-TLC oraz być może śladowy rozdział (Rys. 31b). Wartości R_f plamek chromatograficznych są stabilne i równe 0,82. Wartości te są wyższe niż uzyskane dla enancjomerów 1 i 2 na warstwach żelu krzemionkowego impregnowanych L-argininą.



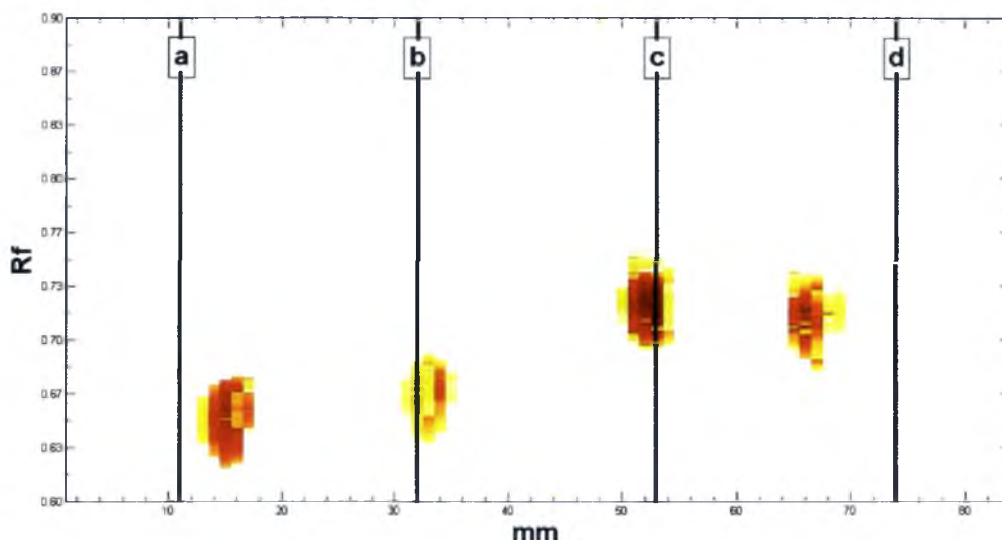
Rys. 31. Wybrane obrazy 2D chromatogramów kwasu (\pm)-2-fenylpropionowego na płytkach pokrytych czystą krzemionką.

Komercyjnie dostępne płytki chromatograficzne pokryte żelom krzemionkowym uważane są za achiralne. Jednak obserwowane efekty zachodzące na powierzchni czystej krzemionki wydają się mieć charakter chiralny, co skłoniło mnie do próby zamaskowania potencjalnej śladowej chiralności krzemionki poprzez zaimpregnowanie płytek DL-argininą (optycznie nieczynna). Otrzymane chromatogramy (Rys. 32) pokazują niepełny rozdział pionowy obu enancjomerów kwasu oraz widoczną boczną relokację plamek. Także w tym przypadku hipoteza dimerycznego charakteru obrazu wydaje się dobrze tłumaczyć chromatogram, pod warunkiem założenia inwersji konfiguracji dimeru. Jak widać w tym przypadku, próba impregnacji DL-argininą nie znosi efektów chiralnych. W dalszych badaniach na rysunku 36 wykazano, że tylko płytki świeżo impregnowane DL-argininą maskują efekty chiralne.



Rys. 32. Wybrane obrazy 2D chromatogramów kwasu (\pm)-2-fenylpropionowego na płytkach zaimpregnowanych DL-argininą. a- LR-TLC- lewo; b- LR-TLC- prawo.

Rysunek 33a-d ilustruje chromatogramy TLC kwasu 2-fenylpropionowego. Na jedną płytkę chromatograficzną naniesiono cztery próbki roztworu kwasu przechowywanego w 70 % wodnym roztworze etanolu, po czasie odpowiednio 0, 2, 26 i 100 godzin od momentu sporządzenia tego roztworu. Rysunki 33a i 33b pokazują, że w pierwszych dwóch naniesionych próbkach analit wykazuje efekt LR-TLC- odchylenie w prawo, wartości R_f są w zakresie od 0,66, natomiast rysunek 33c i 33d przedstawia plamki o wartościach R_f w zakresie od 0,73, odchyłone w lewo. W ostatnim przypadku zmianie ulega nie tylko kierunkowość LR-TLC, ale także wartość współczynnika R_f .



Rys. 33. Chromatogramy 2D kwasu (±)-2-fenylopropionowego na płytkach pokrytych L-argininą w zależności od czasu przechowywania próbki kwasu w roztworze metanolowym.

W tabeli 4 zestawiono maksymalne wartości bocznych odchyień próbek kwasu 2-fenylopropionowego w trzech badanych układach TLC. Zaobserwowano znaczne wielkości odchyień, sięgające pięciu lub nawet ośmiu milimetrów, od miejsca nakropienia analitu.

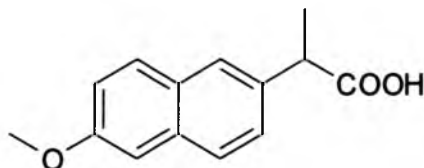
Tabela 4. Odchylenie boczne (kierunek i wielkość) pasm kwasu (R,S)-2-fenylopropionowego badanego w różnych układach chromatograficznych (1-3).

Nr	Impregnat	R _f	Maksymalne odchylenie [mm] ³	Kierunek
1	L- arginina	0,65	2	prawo
		0,79	5	lewo
2	DL- arginina	0,65	3	prawo
		0,71	5	lewo
3	brak	0,82	8	prawo

³ Wartość maksymalna uzyskana z 30 eksperymentów- statystykę podano w tabeli 7.

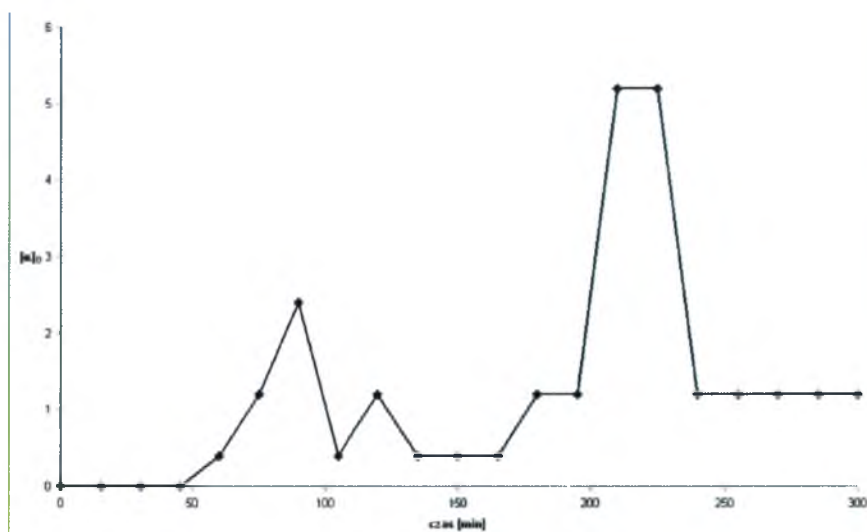
4.3. Naproksen

Do badań TLC użyto S-(+)-naproksen oraz R-(-)-naproksen (Rys. 34). Eksperyment prowadzony był z użyciem różnych achiralnych faz ruchomych oraz zróżnicowanych faz stacjonarnych: czysty żel krzemionkowy, żel impregnowany DL-argininą lub L-argininą.



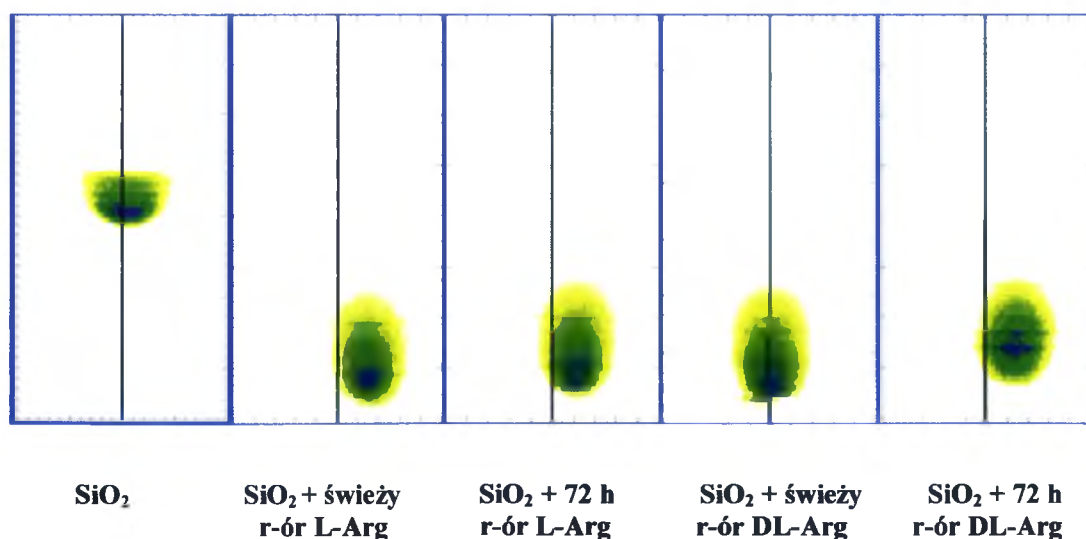
Rys. 34. Naproksen.

Porównanie chromatogramów naproksenu uzyskanych na żelu krzemionkowym zaimpregnowanym L-argininą oraz DL-argininą, potwierdziło wcześniejsze obserwacje wpływu molekularnej chiralności impregnatu na retencję i rozdział enancjomeryczny badanych związków. Proces impregnacji wpływa na zwiększenie długości plamek, nawet dwukrotne w porównaniu z niezaimpregnowanymi fazami stacjonarnymi, L-arginina wpływa na odchylenie pasm chromatograficznych niezależnie od czasu przechowywania impregnatu, natomiast DL-arginina, jak wynika z badań polarymetrycznych, już po godzinie od przechowywania, wykazuje zmieniającą się czynność optyczną, co jest widoczne na wykresie przedstawionym na rysunku 35.



Rys. 35. Wykres przedstawiający zmiany skręcalności właściwej metanolowego roztworu DL-argininy w zależności od czasu jego przechowywania.

Taki wynik pozostaje w zgodzie z badaniami TLC, gdzie chociaż początkowo nie obserwuje się odchylen pasm chromatograficznych na płytkach zaimpregnowanych świeżym roztworem DL-argininy, to po zaimpregnowaniu płytek roztworem 72-godzinnym widać już wyraźne odchylenia (Rys. 36).



Rys. 36. Chromatogramy otrzymane dla roztworu (R)-naproksenu w poszczególnych układach chromatograficznych.

W tabeli 5 zestawiono maksymalne wartości bocznych odchyień próbek przebadanych profenów w trzech badanych układach TLC. Zaobserwowano odchylenie od miejsca nakropienia analitu dla płytek zaimpregnowanych roztworem L-argininy oraz nieznaczne odchylenie naproksenu badanego na płytkach bez impregnatu.

Tabela 5. Zestawienie wyników otrzymanych dla naproksenu.

Analit	Impregnat	R _f	Maksymalne odchylenie [mm] ⁴	Kierunek
(S)-naproksen	L- arginina	0,90	3	lewo
(R)-naproksen		0,85	3	prawo
(S)-naproksen	DL- arginina	0,86	0	-
(R)-naproksen		0,81	0	-
(S)-naproksen	brak	0,71	1	lewo
(R)-naproksen		0,68	1	prawo

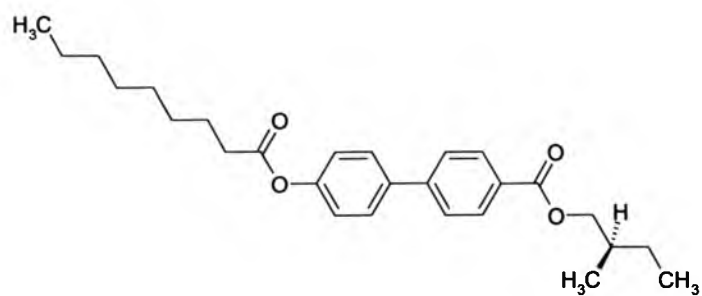
Warto tu zwrócić uwagę na istotne uproszczenie chromatogramów dla cząsteczek enancjomerów w porównaniu do obrazów uzyskiwanych dla mieszanin R,S. Obserwujemy teraz pojedyncze plamki chromatograficzne. Efekt ten nie wyklucza hipotezy dimerowej, bowiem w takim układzie powstaje jeden optycznie czynny dimer RR lub SS.

4.4. TLC modelowych śmigieł molekularnych

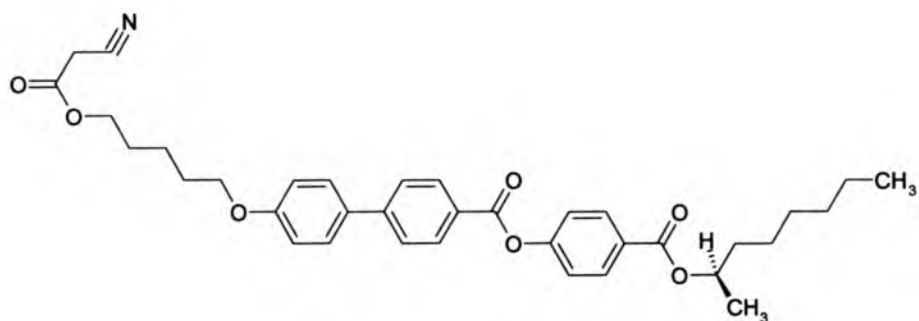
4.4.1. Związki ferro

W ramach badań prowadzonych nad rotacjami molekularnymi przeprowadzono szereg badań we współpracy z Instytutem Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk, gdzie od lat syntezowane i badane są śmigła molekularne podobne do tych, które wykazują efekt CCP (rozdział 2.3.5). Modelowe związki używane jako rotory [139] (Rys. 62) poddano badaniom w układach chromatografii cienkowarstwowej.

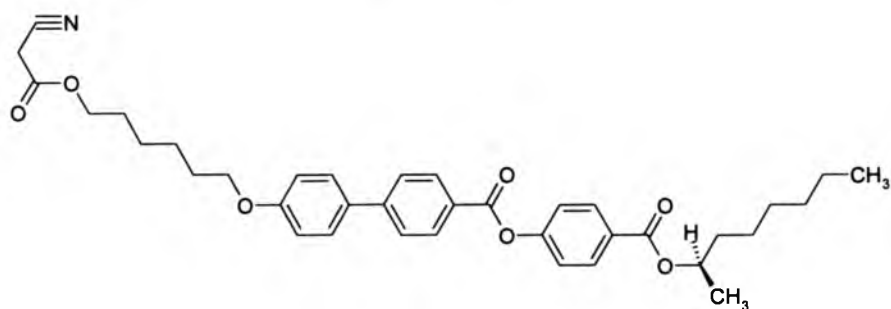
⁴ Wartość maksymalna uzyskana z 30 eksperymentów- statystykę podano w tabeli 7.



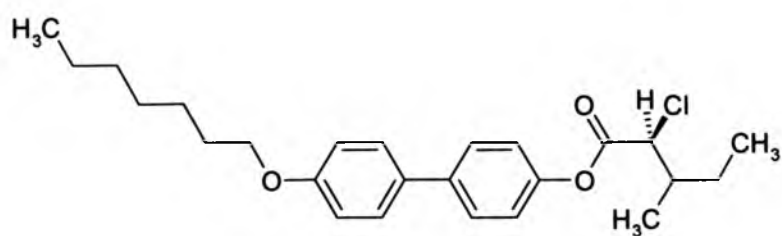
ferroA



ferroC₅



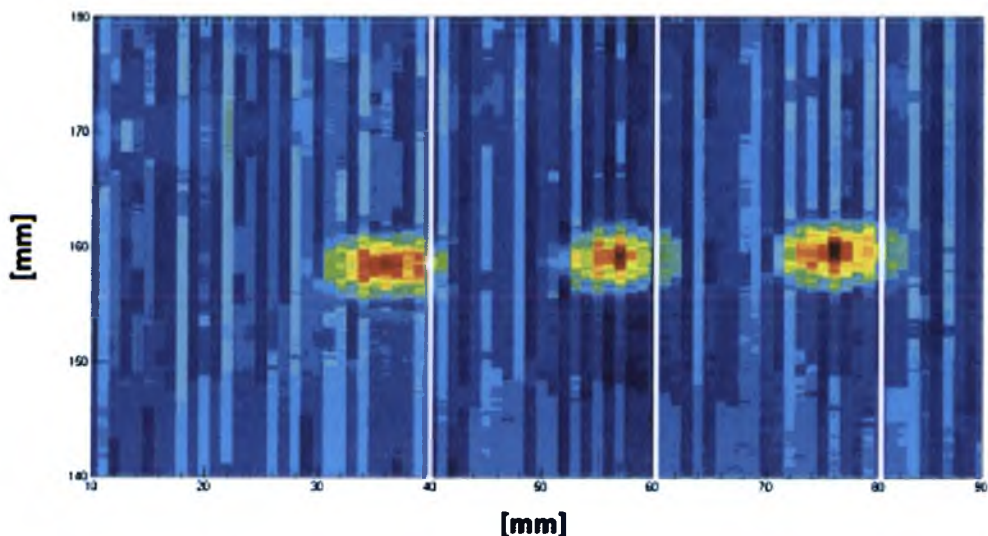
ferroC



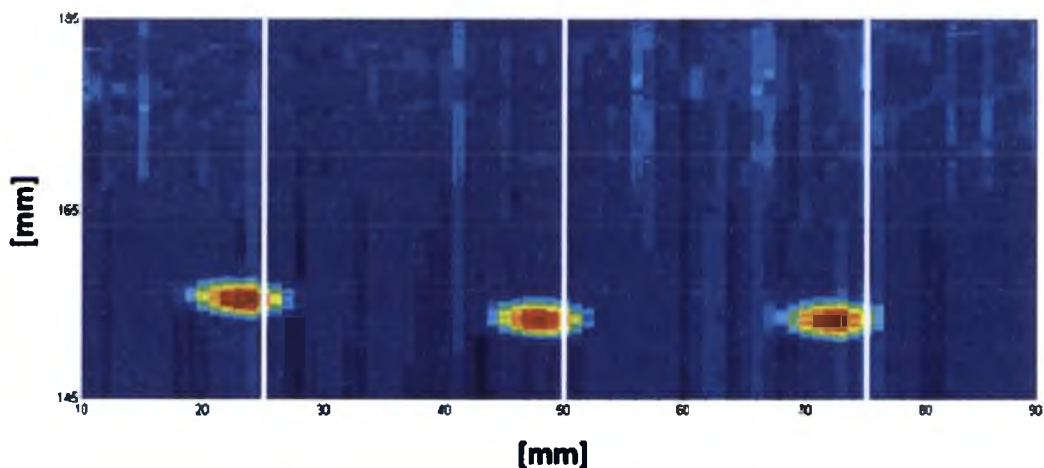
ferroD

Rys. 37. Struktury związków zaliczonych do grupy rotorów.

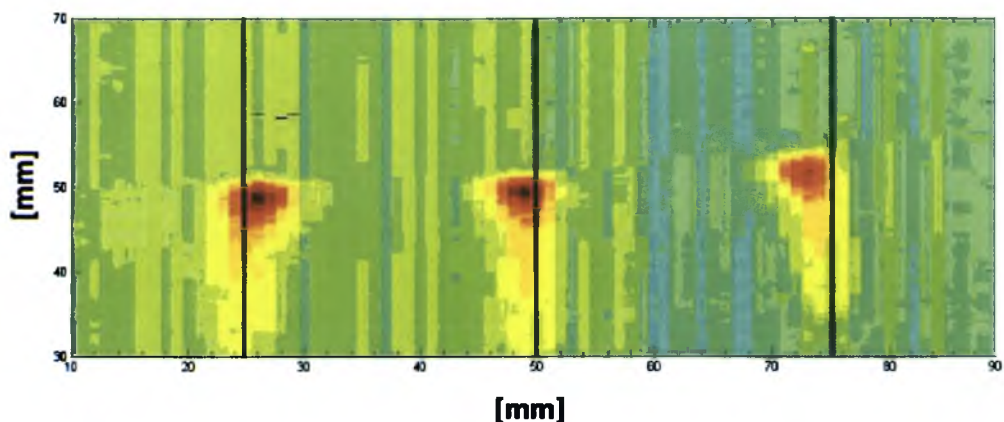
Na otrzymanych chromatogramach analizowanych związków widać znaczne odchylenie analitów od prostolinijnego toru migracji z fazą ruchomą. Na poniższych rysunkach (Rys. 38-Rys. 41) przedstawiono chromatogramy otrzymane dla związków zaliczanych do grupy śmigieł molekularnych rozwijanych na płytkach pokrytych czystym żelazem krzemionkowym.



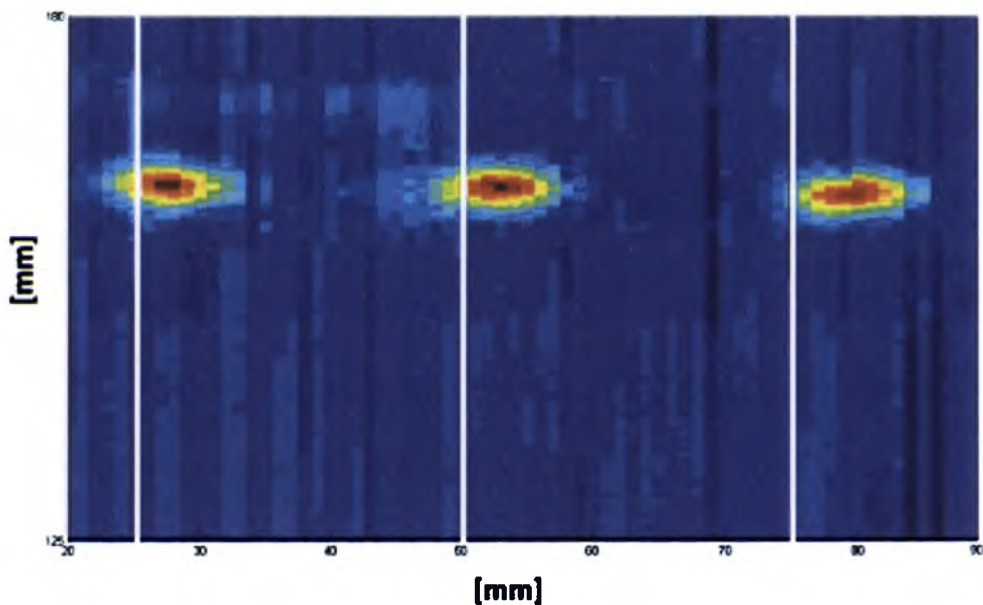
Rys. 38. Chromatogram 2D związku ferroA, płytka pokryta SiO₂.



Rys. 39. Chromatogram 2D związku ferroC, płytka pokryta SiO₂.

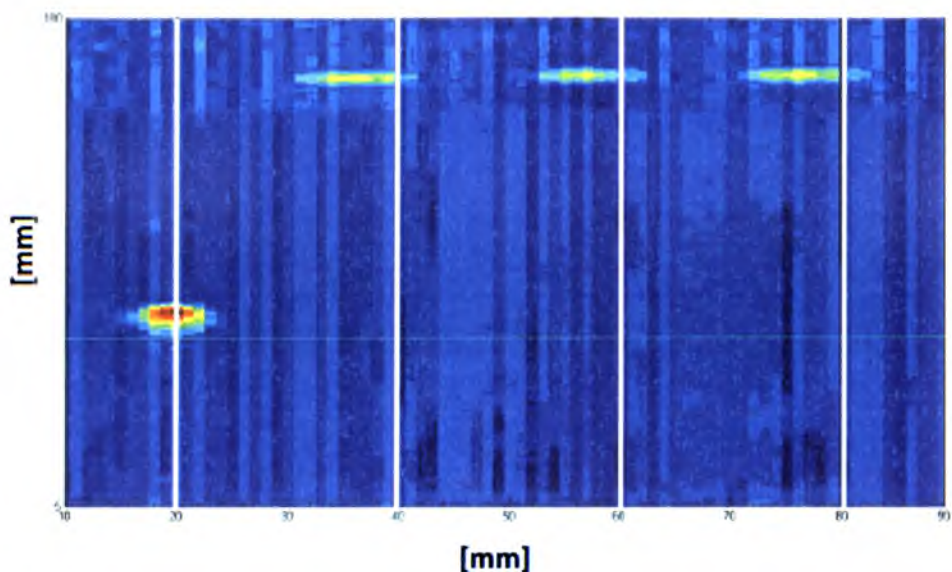


Rys. 40. Chromatogram 2D związku ferroC₅, płytka pokryta SiO₂.



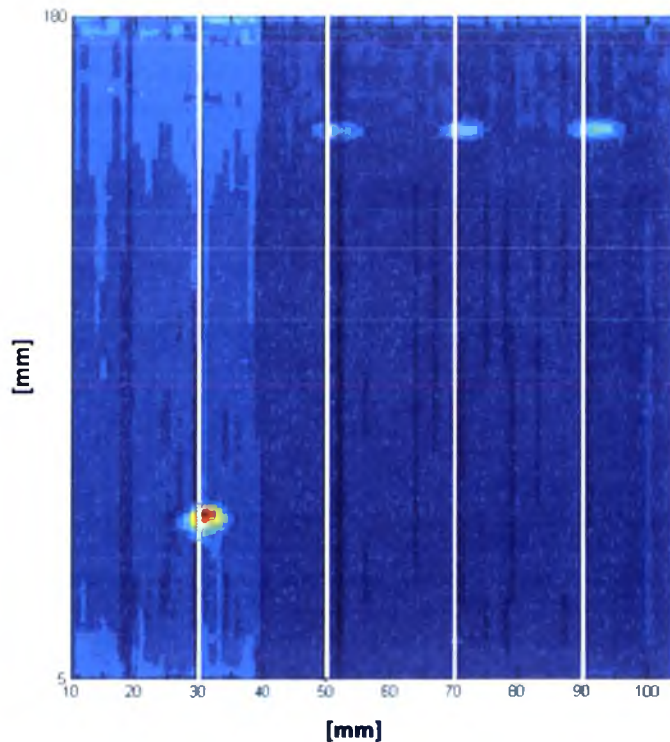
Rys. 41. Chromatogram 2D związku ferroD, płytka pokryta SiO₂.

Rysunek 42 przedstawia chromatogram otrzymany dla związku ferroA (plamki 2-4) rozwijany na jednej płytce wraz ze związkiem kontrolnym niewykazującym rotacji (kwasem p-aminobenzoowym- plamka 1) na płytce pokrytej czystym żelom krzemionkowym.



Rys. 42. Chromatogram 2D związku ferroA oraz kwasu p-aminobenzoesowego, płytka pokryta SiO_2 .

Rysunek 43 przedstawia chromatogram otrzymany dla związku ferroD (plamki 2-4) rozwijany na jednej płytce wraz ze związkiem kontrolnym niewykazującym rotacji (kwasem p-aminobenzoesowym- plamka 1) na płytce pokrytej czystym żelom krzemionkowym.



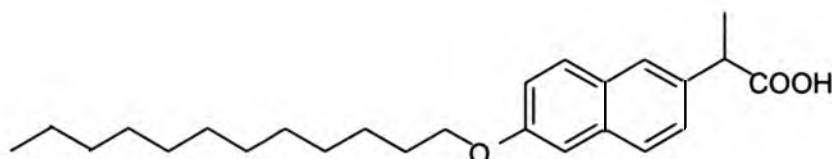
Rys. 43. Chromatogram 2D związku ferroD oraz kwasu p-aminobenzoesowego, płytka pokryta SiO_2 .

Podsumowując, chromatogramy związków ferro podobne do obrazów TLC enancjomerów wykazują obecność pojedynczej plamki chromatograficznej.

4.4.2. Śmigła molekularne o wydłużonym kształcie

4.4.2.1. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy

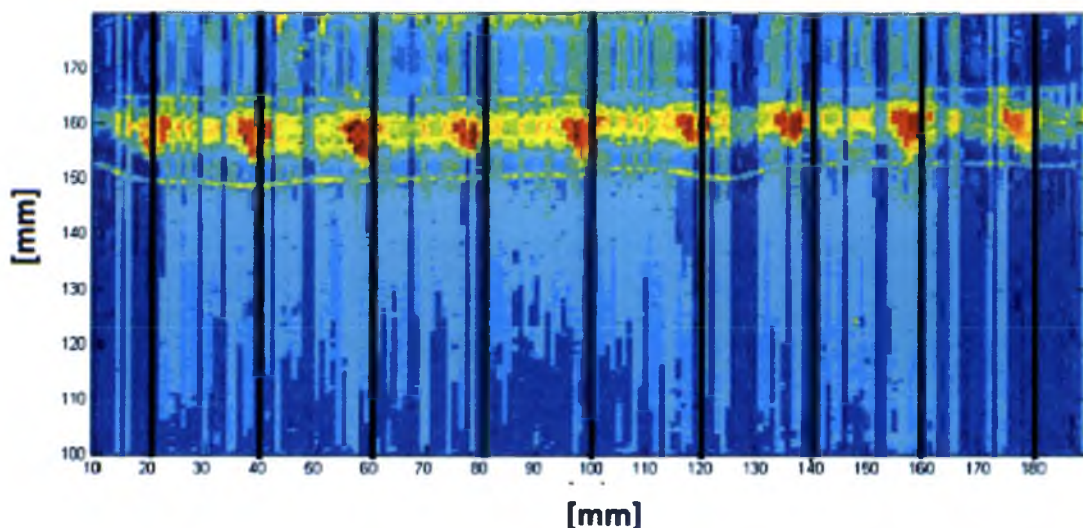
Eksperyment TLC wykonano także dla syntezowanej przeze mnie pochodnej naproksenu, kwasu α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowego (Rys. 44), zmodyfikowanej poprzez dodanie długiego łańcucha węglowego w pozycji 6 pierścienia naftalenowego do cząsteczki naproksenu.



Rys. 44. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy.

Modelowa pochodna naproksenu, o strukturze imitującej układy ferro, podczas badań TLC wykazuje odchylenia od prostolinijnej drogi migracji z fazą ruchomą. Zachowanie to jest podobne do obserwowanego w przypadku związków zaliczanych do śmigieł molekularnych opisanych w literaturze (ferroA-ferroD) i może wynikać z analogii w budowie obu klas związków. Maksymalne odchylenie LR-TLC kwasu α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowego wynosi 3 mm, co przedstawiono na chromatogramie widocznym na rysunku 45.

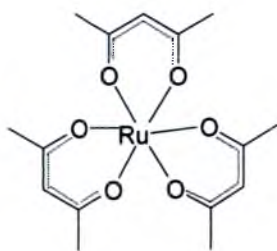
Efekt ten obserwuje się dla związku, który poddany został badaniom chromatograficznym w postaci mieszaniny enancjomerów. Nie obserwowałam w tym przypadku rozdziału chromatograficznego analitu.



Rys. 45. Chromatogram 2D otrzymany dla pochodnej naproksenu na płytce pokrytej SiO₂.

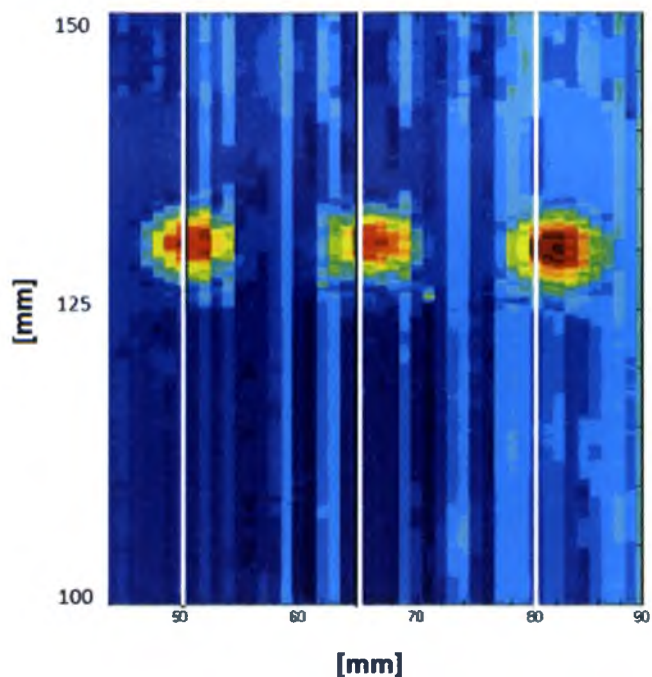
4.4.2.2. Ru(acac)₃ - tris(2,4-pentanodioniano)ruten (III)

Zachowanie związku Ru(acac)₃ (Rys. 46) przebadano w układach chromatograficznych ze względu na jego budowę strukturalną przypominającą śmigło zbudowane z trzech łopat oraz trwałość kompleksu rutenu w użytych warunkach eksperymentalnych.



Rys. 46. Ru(acac)₃.

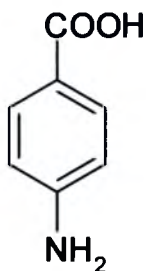
Rysunek 47 przedstawia boczną relokację zaobserwowaną po rozwinięciu chromatogramu kompleksu rutenu. Związek ten odchyła się w prawo od prostolinijnej drogi migracji rozpuszczalnika. Maksymalna wartość odchylenia wynosi 3 mm.



Rys. 47. Chromatogram 2D związku $\text{Ru}(\text{acac})_3$ na płycie pokrytej SiO_2 .

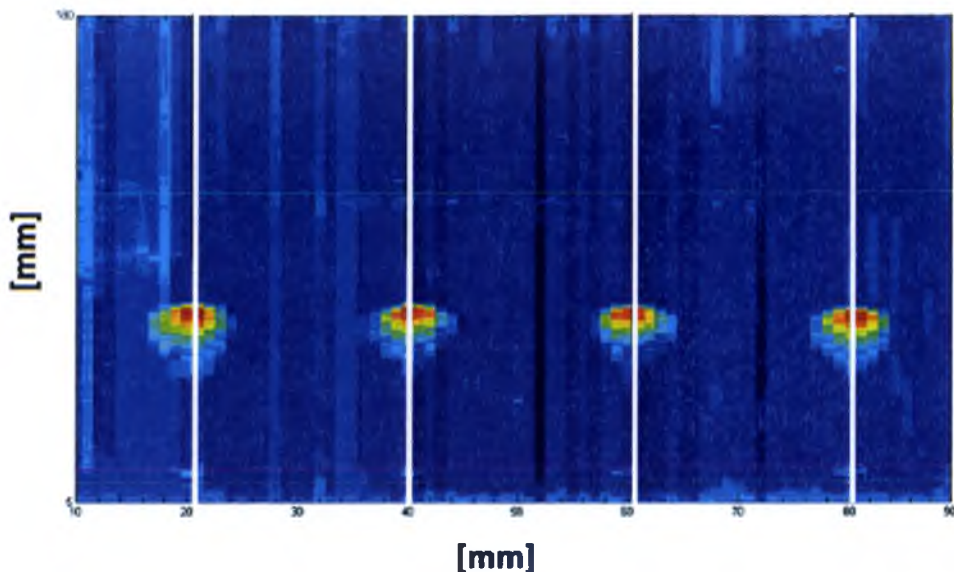
4.5. Eksperymenty kontrolne

Jako związek kontrolny, niewykazujący odchyień od prostolinijnego toru migracji z rozpuszczalnikiem, badaniom w układach TLC używano kwasu p-aminobenzoowego (Rys. 48). Roztwór kwasu p-aminobenzoowego o stężeniu równym $c = 1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sporządzono w etanolu.



Rys. 48. Kwas p-aminobenzoowy.

Poniżej (Rys. 49) przedstawiono otrzymany w eksperymencie chromatogram 2D dla kwasu p-aminobenzoowego rozwijanego na płytkach pokrytych czystą krzemionką.



Rys. 49. Chromatogram 2D kwasu p-aminobenzoowego na płytce pokrytej SiO_2 .

W badanych układach chromatograficznych kwas p-aminobenzoowy nie wykazuje efektu LR-TLC. Z tego względu związek ten został z powodzeniem wykorzystany jako związek kontrolny w eksperymentach z użyciem innych badanych związków, które podczas migracji z rozpuszczalnikiem fazy ruchomej ulegają przemieszczeniu na płytkach chromatograficznych.

Eksperymentem kontrolnym (powtarzanym wielokrotnie) było rozwinięcie badanych związków na płytkach chromatograficznych fabrycznie pokrytych achiralnym tlenkiem glinu Al_2O_3 . Uzyskane wartości współczynników R_f oraz krótką charakterystykę zastosowanych układów zestawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Wyniki uzyskane dla testowanych analitów w układzie z Al_2O_3 jako fazą stacjonarną.

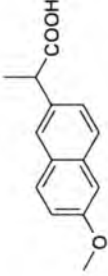
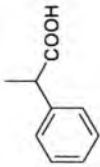
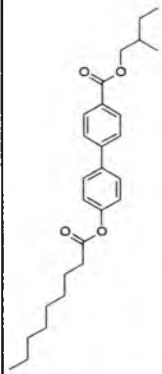
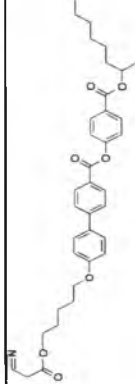
Związek	Wartość R_f	Wielkość relokacji [mm] maksimum/ średnia wartość± odchylenie standardowe	Faza ruchoma
(S)-naproksen	0,48	1,0/0,3±0,5	Acetonitryl:metanol: woda 5:1:1,5
kwasy 2-fenylpropionowy	0,38	1,0/0,2±0,4	Acetonitryl:metanol: woda 5:1:0,75
ferroA	0,96	0,5/0,1±0,2	Heksan:2-propanol 9:1
ferroC ₅	0,65	0,5/0,2±0,2	Heksan:2-propanol 9:1
ferroC	0,81	1,0/0,3±0,4	Heksan:2-propanol 9:1
ferroD	0,97	0,0/0,0±0,0	Heksan:2-propanol 9:1
$\text{Ru}(\text{acac})_3$	0,93	0,0/0,0±0,0	Heksan:2-propanol 9,5:0,5
kwasy α-metylo-6-(dodecyloksy)-2-naftalenowy	0,95	0,5/0,2±0,2	Acetonitryl:heksan 5:1
kwasy p-aminobenzoowe	-	-	Nie udało się dobrać fazy ruchomej dla badanego związku

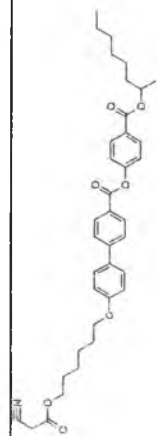
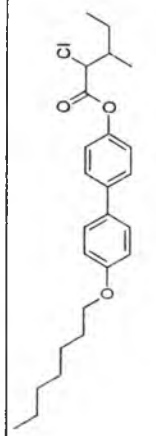
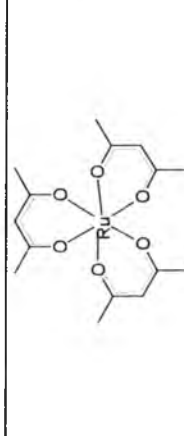
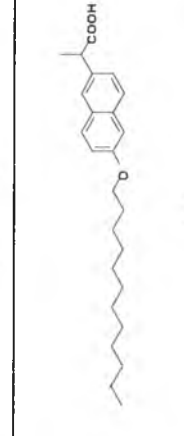
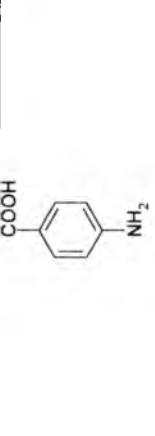
W układzie chromatograficznym z zastosowaniem płytek pokrytych tlenkiem glinu nie uzyskano rozdziału enancjomerycznego, ani nie zaobserwowano bocznych odchyleń testowanych analitów przekraczających wartość 1mm (Tabela 6). Potwierdziło to fakt, że naturalna chiralność warstw żelu krzemionkowego jest istotna dla badanego zjawiska bocznej relokacji chiralnych analitów.

4.6. Zestawienie uzyskanych wyników chromatograficznych

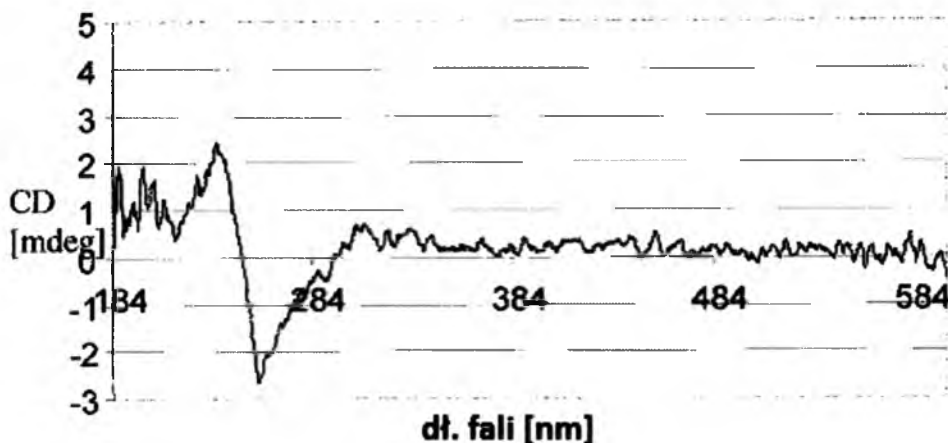
Otrzymane wyniki pozwalają stwierdzić, że w chromatografii cienkowarstwowej z zastosowaniem chiralnych faz stacjonarnych związki będące potencjalnymi śmigłami molekularnymi mogą wykazywać odchylenia od oczekiwanej prostolinijnej drogi migracji z fazą ruchomą. W praktyce chromatografii TLC rzadko przeprowadza się wielokrotne eksperymenty. W celu ustalenia na ile efekty rozdzielów chiralnych są stabilne, wielokrotnie powtarzałam rozdziały. Z przeprowadzonych badań wynika, że związki chiralne mogą ulegać nie tylko pionowemu, ale również poziomemu rozdzielowi w chromatografii cienkowarstwowej. Zestawienie otrzymanych wyników przedstawiono w tabeli 7. W tabeli podano odpowiednie struktury molekularne przebadanych związków, krótką charakterystykę układów chromatograficznych zastosowanych w eksperymencie, długości fal używanych do skanowania odpowiednich chromatogramów, wartości wyznaczonych współczynników R_f oraz wielkości bocznego odchylenia analitów podczas migracji z fazą ruchomą. Wszystkie doświadczenia przeprowadzono w temperaturze 22 °C

Tabela 7. Zestawienie wszystkich związków przebadanych w układach TLC.

Związek	Struktura	Układ TLC		R_F	Wielkość relokacji [mm] kierunek/maksimum/ średnia wartość± odchylenie standardowe
		Faza stacjonarna	Faza ruchoma (v/v)		
(S)-naproksen		żel krzemionkowy impregnowany L-alaniną	Etanol z dodatkiem 1 % objętościowego lodowatego kwasu octowego	0,90	lewo 3,0/2,3±0,5
kwas (±)-2- fenylopropionowy		żel krzemionkowy impregnowany L-alaniną	Acetonitryl:metanol:w oda 5:1:0,75, z dodatkiem 1 % objętościowego lodowatego kwasu octowego	0,65	prawo 2,0/1,8±0,9
ferroA		żel krzemionkowy	Heksan:2-propanol 8:2	0,96	lewo 4,0/3,7±0,6
ferroC ₅		żel krzemionkowy	Heksan:metanol 8:2	0,41	lewo 5,0/3,5±1,7

ferroC		żel krzemionkowy	Heksan:2-propanol 8:2	310	0,71	lewo 4,0/3,0±1,0
ferroD		żel krzemionkowy	Heksan:2-propanol 8,5:1,5 Heksan:2-propanol 8:2	260	0,91 0,98	prawo 3,0/2,4±0,5 prawo, 5 5,0/3,0±1,4
Ru(acac) ₃		żel krzemionkowy	Octan etylu	280	0,81	prawo 3,0/2,0±0,6
kwasy α-metylo-6-(dodecyloksy)-2-naftalenowy		żel krzemionkowy	Acetonitryl:heksan 5:2	254	0,95	lewo 3,0/2,3±0,7
kwasy p-aminobenzoesowy		żel krzemionkowy	Heksan:2-propanol 8:2	290	0,39	prawo 1,0/0,2±0,4

Porównanie migracji na Al_2O_3 oraz SiO_2 pozwala na spekulację, że podłoże chromatograficzne jest decydujące dla możliwości występowania efektu LR-TLC. Mikrokrystaliczna postać dwutlenku krzemu, który może krystalizować w dwóch różnych formach enancjomorficznych (prawo i lewoskrętnej) i jest używany jako najbardziej popularna faza stacjonarna w chromatografii cienkowarstwowej, jest elementem warunkującym występowanie LR-TLC. Mikrokrystaliczna chiralność żelu krzemionkowego została potwierdzona za pomocą spektroskopii dichroizmu kołowego (CD). Na widmie (Rys. 50) [127] zaobserwować można pasma Cottona charakterystyczne dla substancji wykazujących dwójłomność kołową (skręcalność światła spolaryzowanego). Chiralność żelu krzemionkowego opisano w omawianym kontekście obserwowanych odchylen drogi migracji wybranych chiralnych analitów [126,128,130,140]. W publikacjach tych nie przedstawiono jednak żadnego mechanizmu tłumaczącego molekularne mechanizmy takiego zjawiska.



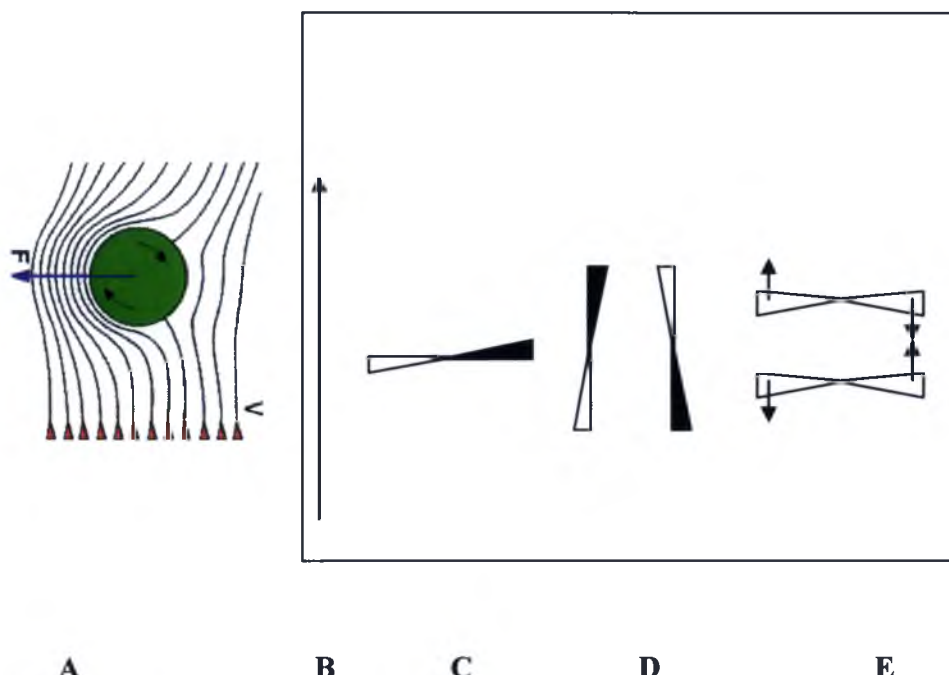
Rys. 50. Widmo CD niezwiązanego żelu krzemionkowego stosowanego w chromatografii cienkowarstwowej (zawiesina w Nujolu) [127].

Jedną z możliwych przyczyn powstawania bocznego odchylenia w ruchu postępowym jest siła Magnusa. W rotującym układzie poruszającym się ruchem prostoliniowym generowana jest siła działająca w kierunku prostopadłym do ruchu liniowego (Rys. 51).

Wykonane badania efektu LR-TLC sugerują, że przemieszczenie boczne analitów w układach chromatografii cienkowarstwowej może wynikać z ruchu obrotowego

cząsteczek badanych związków na powierzchni fazy stacjonarnej. Zjawisko odchylenia toru migracji związków można próbować wyjaśnić działaniem siły Magnusa na granicy faz ciec-ciało stałe oraz ciec-ciecz-gaz, obecnych w układach TLC. Badane związki o budowie rotorów molekularnych w chromatografii cienkowarstwowej mogą podlegać rotacji, co prowadzi do siły Magnusa powodując odchylenie trajektorii ich ruchu od liniowości. Możliwy mechanizm przedstawię na przykładzie profenów. Śmigła molekularne to cząsteczki, które mają zdolność do wykazywania rotacji zarówno typu konformacyjnego (np. cząsteczki mające dwie części, które mogą łatwo obracać się względem siebie) jak i typu konfiguracyjnego (gdzie całe cząsteczki obracają się wokół trzech niezależnych osi) [1]. W przypadku profenów i ich cyklicznych dimerów, utworzonych poprzez wiązania wodorowe, możliwe są oba rodzaje rotacji. Obrót płaskiej i sztywnej grupy aryłowej, będącej w pozycji α względem grupy karboksylowej, wokół pojedynczego wiązania C-C jest przykładem rotacji typu konformacyjnego. Takie ugrupowanie cząsteczek może być uważane za pojedynczą łopatę śmigła i może obracać się pod wpływem strumienia fazy ruchomej. Zachowanie dimerów profenów względem powierzchni fazy stacjonarnej można traktować jako rotację konfiguracyjną. Oznacza to, że cały samoorganizujący się układ cząsteczek może obracać się w stosunku do osi migracji analitu, podczas gdy wiązania wewnętrzne cząsteczek pozostają nienaruszone. Struktura cząsteczkowa zarówno monomerów jak i multimerów profenów zawiera elementy rotorów chiralnych i może być odpowiedzialna za ich zachowanie w rozpuszczalniku podczas rozwijania w układach TLC. Warto zwrócić uwagę, że narzucająca się forma dimeru nie jest konieczna do wykazywania rotacji, monomer naproksenu również może być śmigłem molekularnym.

Faza ruchoma napędza śmigło, przekazując mu energię rotacyjną, a jednocześnie cząsteczka śmigła niezwiązana wiązaniami kowalencyjnymi z powierzchnią fazy stacjonarnej może swobodnie “płynąć” w obrotowy sposób wraz z migrującym rozpuszczalnikiem. Chociaż droga migracji śmigieł molekularnych w TLC jest kontrolowana za pomocą wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań z fazą stacjonarną, za efekt LR-TLC odpowiedzialny jest ruch obrotowy cząsteczek. Schematyczne działanie przeciwnych sił odchylających wywieranych przez przepływ fazy ruchomej na śmigło molekularne w warunkach chromatografii cienkowarstwowej przedstawiono na rysunku 51 [141].



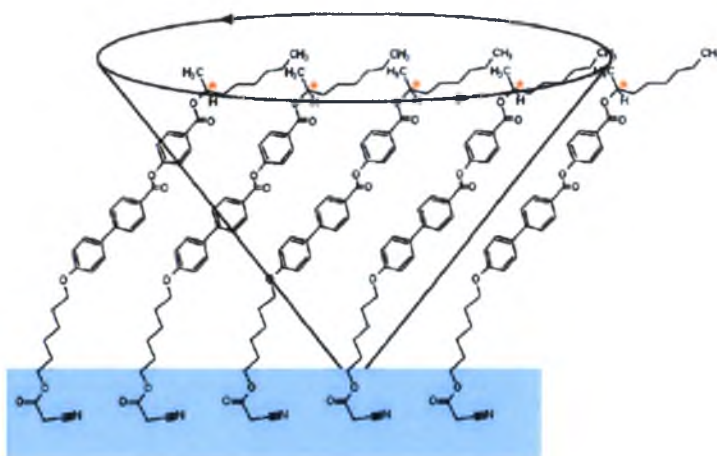
Rys. 51. Schematyczny obraz sił działających na śmigło poruszające się w układzie TLC [141]⁵.



Czarno-białe pola i strzałki wskazują kierunek ruchu łopat śmigła odpowiednio w górę/ dół i w lewo/prawo. Siła F to siła Magnusa (A) działająca na obracający się obiekt przemieszczający się z wektorem prędkości v prostopadłym do osi rotacji. Śmigło molekularne umieszczone na płycie chromatograficznej z rozpuszczalnikiem migrującym w kierunku B może przyjmować trzy podstawowe położenia ([C], [D] oraz [E]) względem kierunku migracji rozpuszczalnika. W położeniu C strumień rozpuszczalnika wywołuje maksymalną rotację śmigła. W ułożeniu D rotujące śmigło ulega działaniu bocznej siły napędowej (działającej w lewo lub prawo) i sile Magnusa skierowanej w górę lub w dół. W położeniu E na rotujące śmigło działa siła napędowa skierowana w górę lub w dół oraz boczna siła Magnusa. W całkowicie achiralnym środowisku obracające się śmigła ulegają statystycznemu ujednoliceniu (Al_2O_3 jako faza stacjonarna), podczas gdy chiralna faza stacjonarna organizuje migrujące śmigła w preferowanej orientacji powodując odchylenie od liniowości w lewo/w prawo lub w górę/dół. Pierwszy efekt obserwowany jest jako efekt LR, a drugi skutkuje zróżnicowaniem wartości R_f .

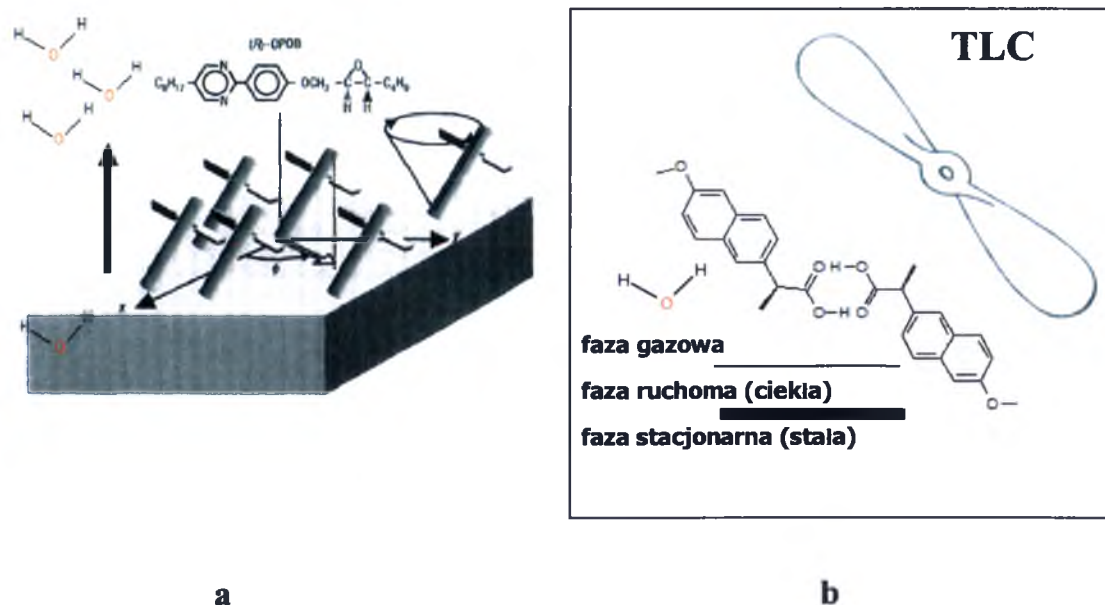
⁵ Wykorzystano elementy grafiki [wikipedia]

Warto zauważyć, że rotory molekularne, np. ferroC, wykazują efekt CCP, rotując na powierzchni granicy faz powietrze/woda, w sposób przedstawiony schematycznie na rysunku 52.



Rys. 52. Schematyczny obraz samoorganizacji cząsteczek związku ferroC i ich rotacje na powierzchni granicy faz woda/powietrze [139].

Być może profeny w układach TLC zachowują się analogicznie do molekularnych śmigieł, napędzanych transportem cząsteczek wody pomiędzy fazą ruchomą a parami wysycającymi komorę chromatograficzną, co schematycznie pokazano na rysunku 53. Taka uzgodniona rotacja mogłaby tłumaczyć przyczynę efektu LR-TLC.



Rys. 53. Hipotetyczny schemat uzgodnionej rotacji dimeru naproksenu w układzie TLC (b) oraz jego analogia do efektu opisanego jako CCP (a).

4.7. Wpływ temperatury na efekty transportu profenów w chromatografii cienkowarstwowej

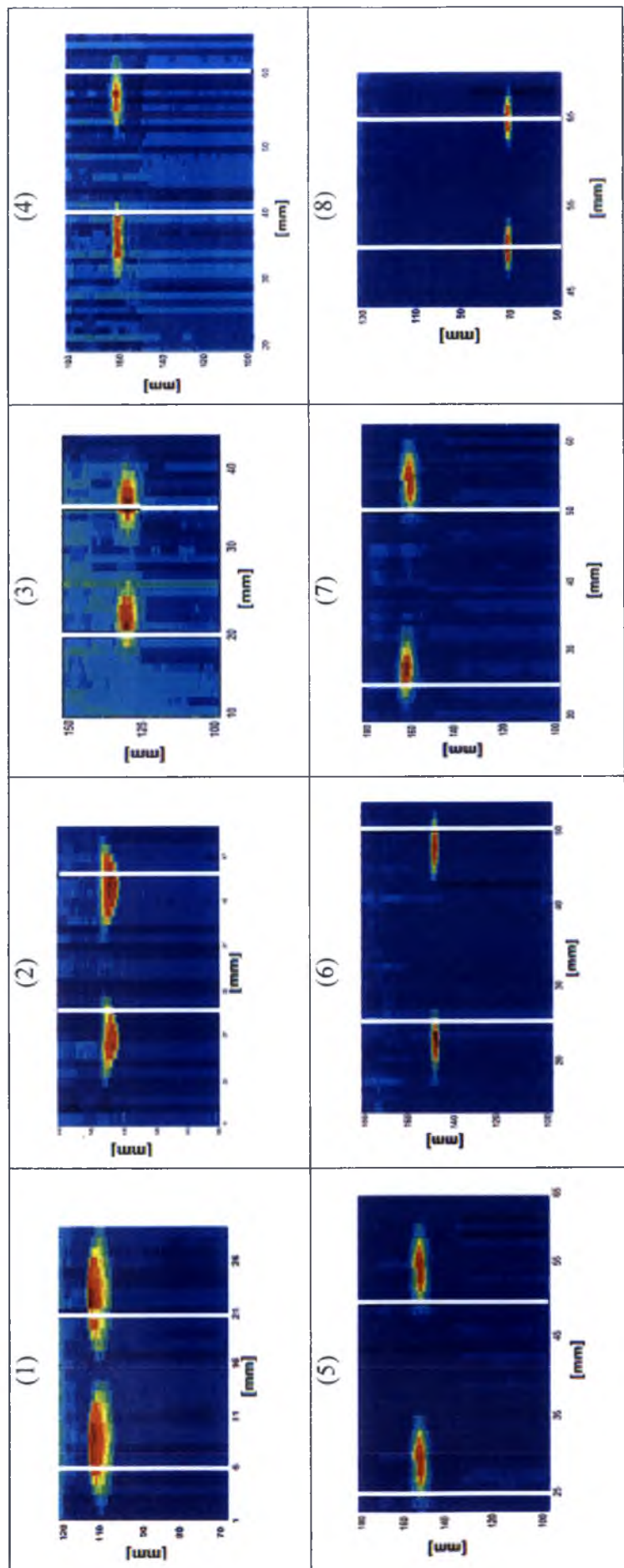
W ramach moich badań przeanalizowałem również wpływ temperatury na obserwowane zjawisko LR-TLC. Eksperymenty prowadzono w dwóch temperaturach, a mianowicie w 22 °C oraz 4 °C na płytkach chromatograficznych pokrytych czystym żelem krzemionkowym lub zaimpregnowanych metanolem z roztworem L-argininy. Eksperyment powtórzony był minimum trzykrotnie dla każdego z badanych związków.

Wyniki otrzymane w przeprowadzonym doświadczeniu zostały zestawione w tabeli 8 oraz zilustrowane na rysunkach zamieszczonych poniżej (Rys. 54 i Rys. 55). Rysunek 54 przedstawia chromatogramy 2D uzyskane dla badanych związków w temperaturze 22 °C pochodzące z odpowiednich skanów densytometrycznych dla wybranych siedmiu związków chiralnych i jednego związku achiralnego. Boczne przeniesienie analitów jest celowo podkreślone czarną linią obrazującą trajektorię biegnącą prostopadle od dolnej krawędzi płytki chromatograficznej i zaczynającą się w miejscu naniesienia analitu. Linia ta w widoczny sposób dzieli plamki chromatograficzne na dwie nierówne części świadczące o odchyleniu związku od prostoliniowej drogi migracji z fazą ruchomą.

Na rysunku 55 porównano zależność temperaturową bocznego przemieszczenia trzech z siedmiu chiralnych analizowanych związków, tj. (S)-naproksenu, związku ferroC i ferroD. W dwóch pierwszych przypadkach, w obu badanych temperaturach obserwowano tę samą kierunkowość bocznego przemieszczenia- w lewo. W ostatnim przypadku (ferroD) odchylenie następowało w lewą stronę w temperaturze 4 °C i w prawą stronę w 22 °C. Tak więc efekt LR-TLC może mieć charakter chaotyczny, a kierunek LR-TLC może ulegać zmianie nawet pod wpływem temperatury.

Tabela 8. Zestawienie wyników eksperymentu badającego wpływ temperatury na boczne przemieszczenie analitów w TLC.

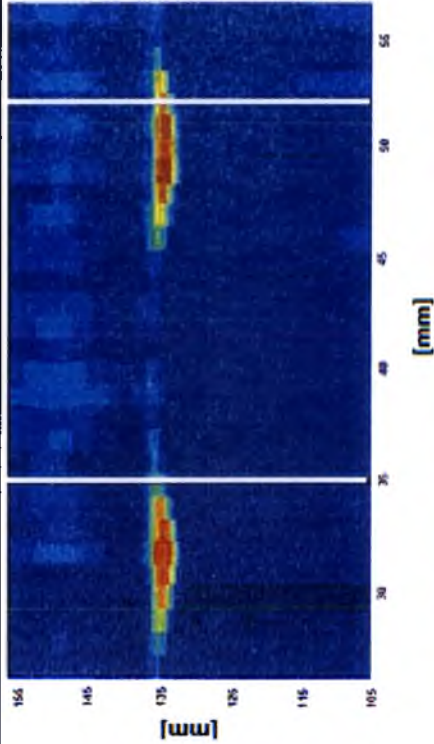
Związek	Zadana temperatura [°C]	Czas rozwijania [h]	R_F	Kierunek relokacji	Wielkość relokacji [mm] maksimum/średnia wartość±odchylenie standardowe
kwas (±)-2-fenylpropionowy	4	0,40	0,64	lewo	2,0/1,8±0,8
	22	1,30	0,65	prawo	2,0/1,8±0,9
(S)-naproksen	4	0,55	0,82	lewo	3,0/2,8±0,4
	22	1,00	0,90	lewo	3,0/2,3±0,5
Ru(acac) ₃	4	0,55	0,81	prawo	2,0/1,5±0,6
	22	1,25	0,81	prawo	3,0/2,0±0,6
ferroA	4	1,15	0,87	lewo	2,0/1,5±0,7
				prawo	4,0/2,5±1,3
	22	1,40	0,96	lewo	4,0/3,7±0,6
ferroC ₅	4	1,10	0,72	lewo	3,0/2,5±0,7
				prawo	2,0/1,7±0,6
ferroC	22	1,15	0,76	prawo	5,0/3,5±1,7
	4	1,00	0,61	lewo	4,0/3,3±0,6
ferroD				prawo	4,0/3,3±0,6
	22	1,40	0,71	lewo	4,0/3,0±1,0
	4	1,10	0,89	lewo	4,0/3,5±0,5
kwas p-aminobenzoesowy	22	1,45	0,98	prawo	5,0/3,0±1,4
	4	1,15	0,19	-	0,0/0,0±0,0
	22	1,30	0,39	prawo	1,0/0,2±0,4



Rys. 54. Chromatogramy 2D otrzymane dla temperatury 22 °C odpowiednio dla: (1) kwas (\pm) -2-fenylpropionowy, (2) (S)-naproksen, (3) Ru(acac)₃, (4) ferroA, (5) ferroC, (6) ferroD, (7) kwas p-aminobenzoowy, (8) kwas p-aminobenzoowy.

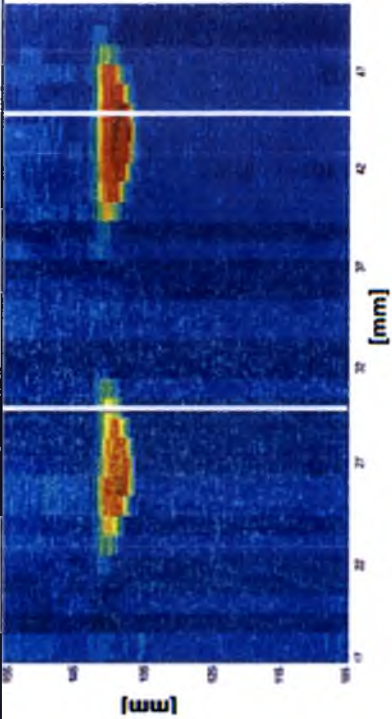
związek

(1)

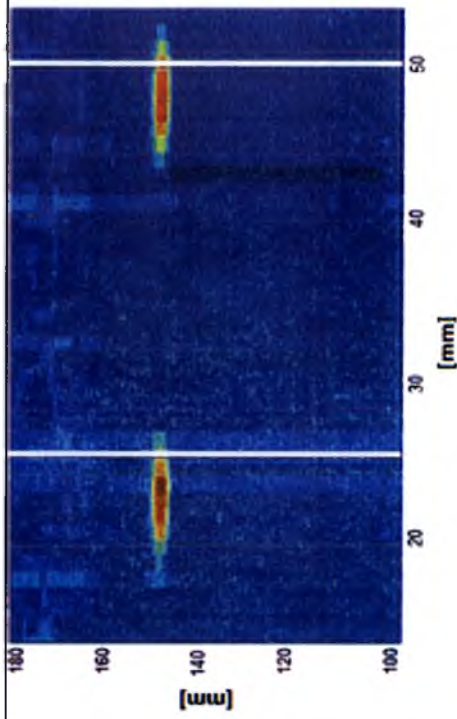
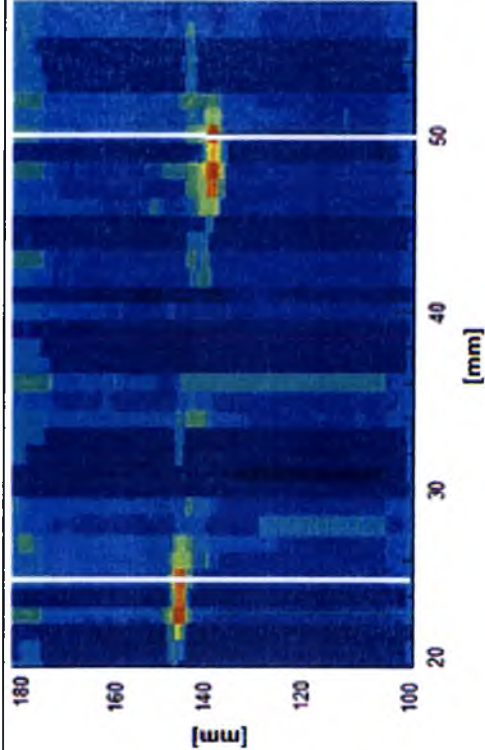


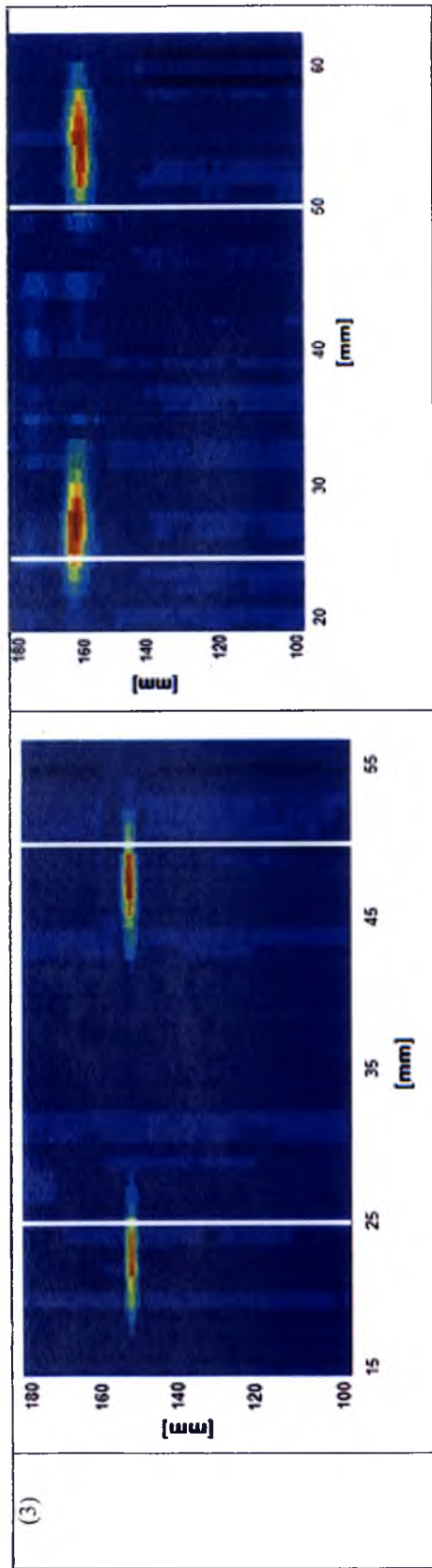
4 °C

22 °C



(2)





Rys. 55. Porównanie bocznej relokacji badanych związków w zależności od temperatury użytej w doświadczeniu;
(1) (S)-naproksen, (2) ferroC, (3) ferroD.

Uzyskane wyniki wskazują, że dla badanych cząsteczek podczas rozwijania ich w układach TLC obserwuje się efekt LR-TLC w obu badanych temperaturach. Związek achiralny, kwas p-aminobenzoowy, nie wykazuje analogicznego efektu niezależnie od warunków temperaturowych zadanych w eksperymencie. Dla związków chiralnych obserwowane maksimum przesunięcia w niższej temperaturze (4 °C) jest mniejsze bądź równe temu występującemu w temperaturze 22 °C. Bardziej efektywna boczna relokacja testowanych związków obserwowana jest w wyższej temperaturze, co pozostaje zgodne z fizykochemicznymi podstawami procesu retencji w układach chromatografii cienkowarstwowej.

W większości przypadków czasy rozwijania poszczególnych chromatografów oraz wartości współczynnika R_f otrzymane w niższej temperaturze były odpowiednio mniejsze oraz niższe. Efekt taki szeroko opisywany jest w literaturze [142-144]. Słabszy efekt LR-TLC oraz niższe wartości R_f otrzymane w eksperymencie z zastosowaniem niższej temperatury tłumaczyć można silniejszymi oddziaływaniami międzycząsteczkowymi pomiędzy testowanymi związkami a fazą stacjonarną w niższej temperaturze niż w temperaturze pokojowej.

W celu wyjaśnienia obserwowanych zależności należy rozważyć działanie sił kapilarnych, które odpowiedzialne są za migrację rozpuszczalników w układach chromatografii planarnej. Dla przepływu kapilarnego bardzo ważne jest napięcie powierzchniowe, im jest ono większe tym efektywniejszy przepływ. Obniżenie temperatury cieczy powoduje zwiększenie napięcia powierzchniowego, w konsekwencji czego w chromatografii cienkowarstwowej bardziej efektywny przepływ kapilarny w niższej temperaturze powoduje szybsze rozwijanie chromatografów niż w temperaturze otoczenia [145]. Oznacza to równoznacznie szybszy przepływ fazy ruchomej. Może także oznaczać silniejszy obrót śmigła, co może powodować wzrost wartości LR-TLC. Efekt przyspieszenia migracji analitów z fazą ruchomą może być jednocześnie znoszony poprzez silniejsze działania sił międzycząsteczkowych pomiędzy testowanym związkiem a fazą stacjonarną w niższej temperaturze. Mocniejsze oddziaływania mogą skutkować skróceniem drogi migracji związku, niższą wartością współczynnika R_f oraz hamowaniem efektu bocznej relokacji.

Generalnie analiza wyników przedstawionych w tabeli 8 nie pozwala na stwierdzenie istotnych zależności między temperaturą a LR-TLC. Warto zauważyć, że również współczynniki R_f nie zawsze stosują się do omawianych wyżej reguł chromatograficznych. Istotnym utrudnieniem w interpretacji wyników przedstawionych w tabeli 8 jest chaotyczna kierunkowość efektu LR-TLC (lewy/prawy), np. dla związku ferroA i ferroC.

W tym miejscu warto zastanowić się nad problemami badań metodą TLC. Ruch analitu na płytce zależy od rodzaju analitu oraz eluentu. Możliwości modyfikacji drogi migracji są zatem bardzo ograniczone. Brak kontroli eksperymentu podczas rozwijania TLC- to następna komplikacja. Płytki TLC są stosunkowo kosztowne. Innym problemem jest reszkowa chiralność fazy stałej SiO_2 . Choć przemysłowa metoda wytwarzania żelu krzemionkowego stosowanego w chromatografii cienkowarstwowej zapewnić ma jego pełną jednorodność i bezpostaciowość, w praktyce obserwuje się nadmiar jednego z enancjomerów. Skutkiem czego może być zmienna chiralność podłoża występującego w danej partii płytek chromatograficznych żelu krzemionkowego w stosunku do innej partii płytek.

4.8. Bezpośrednie pomiary efektów transportu (R)-naproksenu metodą polarymetryczną

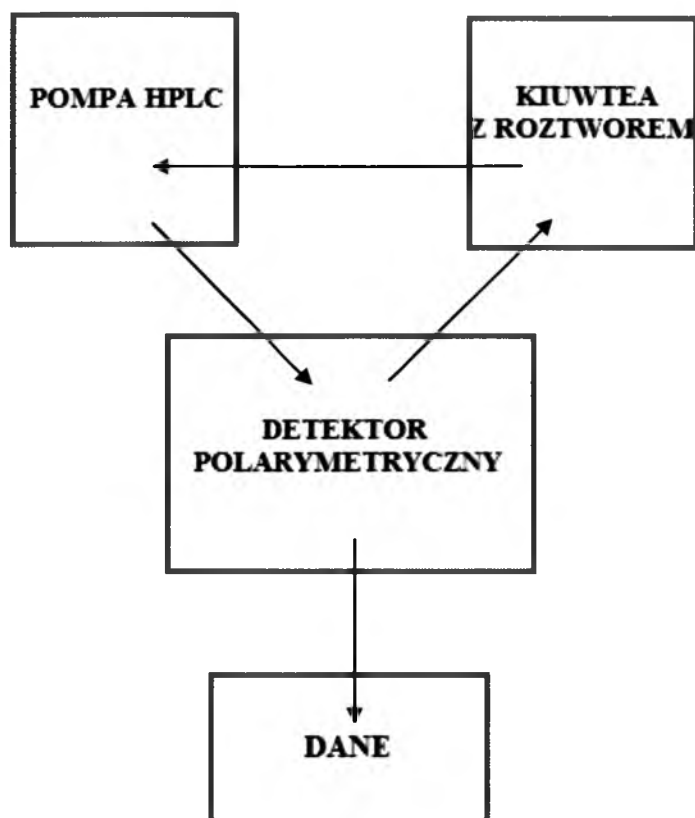
Pomiar skręcalności optycznej wykonany metodą polarymetryczną należy do najstarszych metod fizykochemicznych stosowanych w chemii organicznej. Zmierzony za pomocą polarymetru kąt skręcania zależy od grubości warstwy substancji czynnej, a w przypadku roztworów również od stężenia. Wynik pomiaru przelicza się zwykle na skręcalność właściwą $[\alpha]$. Jest to kąt skręcenia płaszczyzny polaryzacji cieczy albo roztworu zawierającego w 1 ml 1g optycznie czynnego związku, umieszczonego w rurce polarymetrycznej o długości 1 dm. Dla roztworów wzór na skręcalność właściwą przybiera następującą postać:

$$[\alpha] = \alpha \cdot 100 / l \cdot c$$

gdzie α - kąt skręcenia płaszczyzny polaryzacji przez badaną substancję w rurce polarymetrycznej o długości l , c oznacza stężenie objętościowe, liczbę gram substancji optycznie czynnej w 100 ml roztworu [146].

4.8.1. (R)-naproksen

Do badań przepływu metodą polarymetryczną wybrałam czysty enancjomer jednego z profenów, (R)-naproksen. W doświadczeniu użyto rozpuszczalników do HPLC, dichlorometanu oraz metanolu. Celem badań było zbadanie zachowania wybranego profenu w przepływie w układzie eksperymentalnym zaprezentowanym na rysunku 56.



Rys. 56. Schemat blokowy układu doświadczalnego do pomiaru skręcalności właściwej.

Układ składał się odpowiednio z pompy bezpośrednio związanej z polarymetrem wyposażonym w celkę pomiarową o długości 1 dm oraz z systemu Windows z oprogramowaniem umożliwiającym pozyskanie i przetwarzanie danych eksperymentalnych.

Pomiary skręcalności przeprowadzono w temperaturze 25 °C zarówno w trybie statycznym jak i dynamicznym. W układzie dynamicznym (R)-naproksen podawany był przez pompę z kiuwety bezpośrednio do detektora polarymetrycznego, a następnie wyciek z detektora ponownie zawracany był do kiuwety, proces prowadzono w układzie zamkniętym w wybranych okresach czasowych.

Literaturowa wartość skręcalności właściwej (S)-naproksenu w chloroformie (1,25 g/20 ml) wynosi 63-68,5 ° [147,148]. Niezwykle interesującym efektem jest zaobserwowana już w roku 1989 bardzo silna zależność skręcalności właściwej naproksenu od rodzaju rozpuszczalnika (Tabela 9) [149].

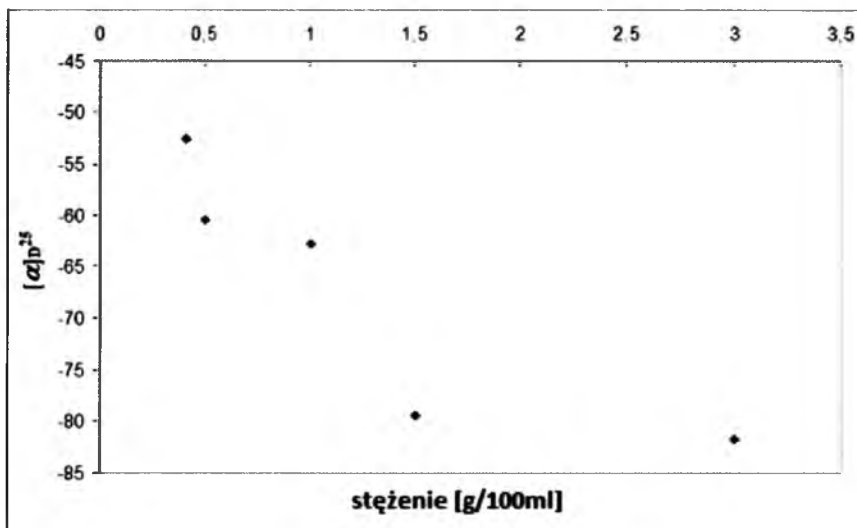
Tabela 9. Różnice w skręcalności właściwej (S)-naproksenu w różnych rozpuszczalnikach [149].

Rozpuszczalnik	Skręcalność właściwa $[\alpha]_D^{25}$
pirydyna	+78 °
2,4-dimetylopirydyna	+85 °
chinolina	+44 °
anilina	+44 °
izobutyloamina	-13 °
diizopropyloamina	-14 °
tertbutyloamina	-14 °
aminodifenylometan	-16 °
wodorotlenek amonu (2M)	-16 °

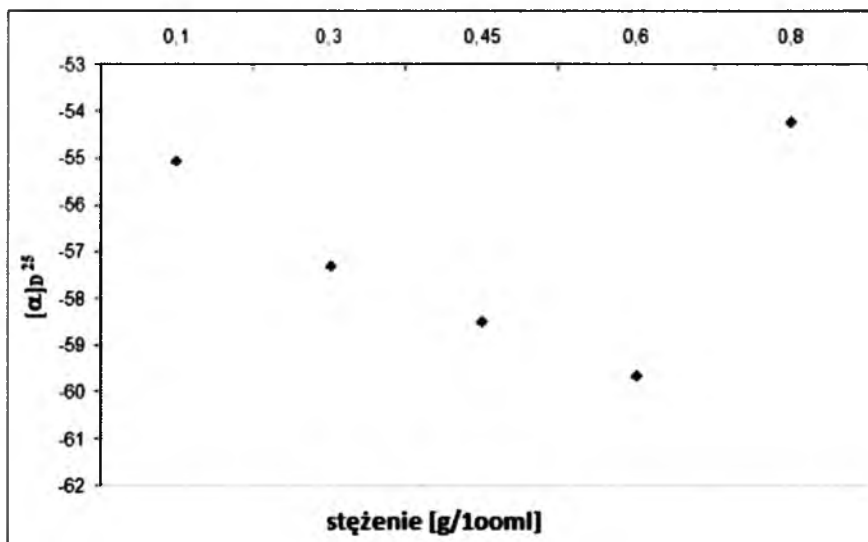
W pracy doktorskiej badaniu poddano roztwór (R)-naproksenu w rozpuszczalnikach organicznych wodnych i niewodnych, zbadano skręcalność właściwą poszczególnych roztworów w zależności od stężenia związku, prędkości przepływu oraz czasu. Na rysunkach 57, 59 oraz 60 pokazano zależność skręcalności właściwej dla (R)-naproksenu rozpuszczonego w dichlorometanie (DCM) i 70 % metanolu w warunkach statycznych od stężenia roztworu. Należy podkreślić, że rozpuszczalność naproksenu w dichlorometanie jest znacznie wyższa niż w 70 % metanolu, stąd w doświadczeniu z DCM zastosowano szersze spektrum stężeń.

W przypadku roztworów sporządzonych w DCM, różnica skręcalności właściwej obliczona dla dwóch skrajnych stężeń 0,42 i 3,00 g/100 ml wynosi około 30 stopni (czyli od ok. -52 stopni do ok. -82 stopni), jak pokazano na rysunku 57a. Analogiczna różnica zaobserwowana dla dwóch skrajnych stężeń 0,10 i 0,80 g/100 ml dla roztworów

metanolowych nie jest bardzo znacząca i wynosi tylko ok. 0,5 stopnia (tzn. od ok. -54,5 stopnia do ok. -54,0 stopni), jak pokazano na rysunku 57b. Jednak największą różnicę w wartości skręcalności właściwej w tym przypadku zaobserwowano pomiędzy stężeniami 0,10 i 0,60 g/100 ml, wynosi ok. 5 stopni (czyli od ok. -54,5 stopni do ok. -59,5 stopni).

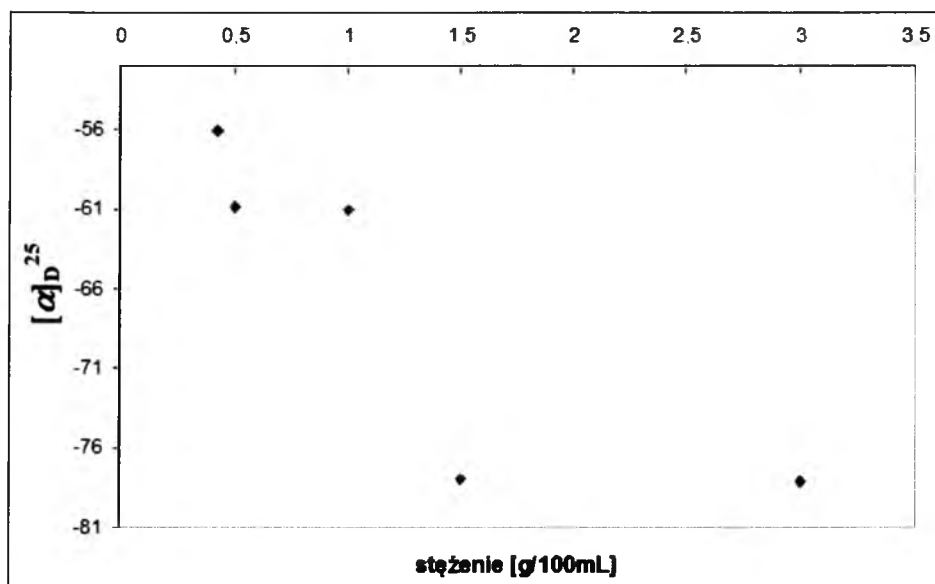


a).

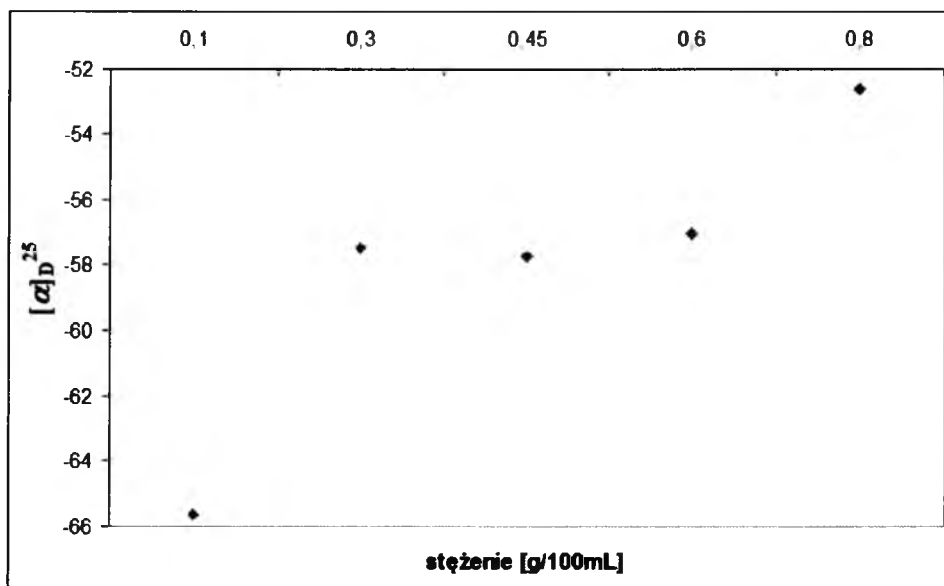


b).

Rys. 57. Zależność skręcalności właściwej od stężenia (R)-naproksenu;
a). roztwory sporządzone w DCM; b). roztwory sporządzone w 70 % metanolu
w układzie stacjonarnym (bez przepływu).



a).



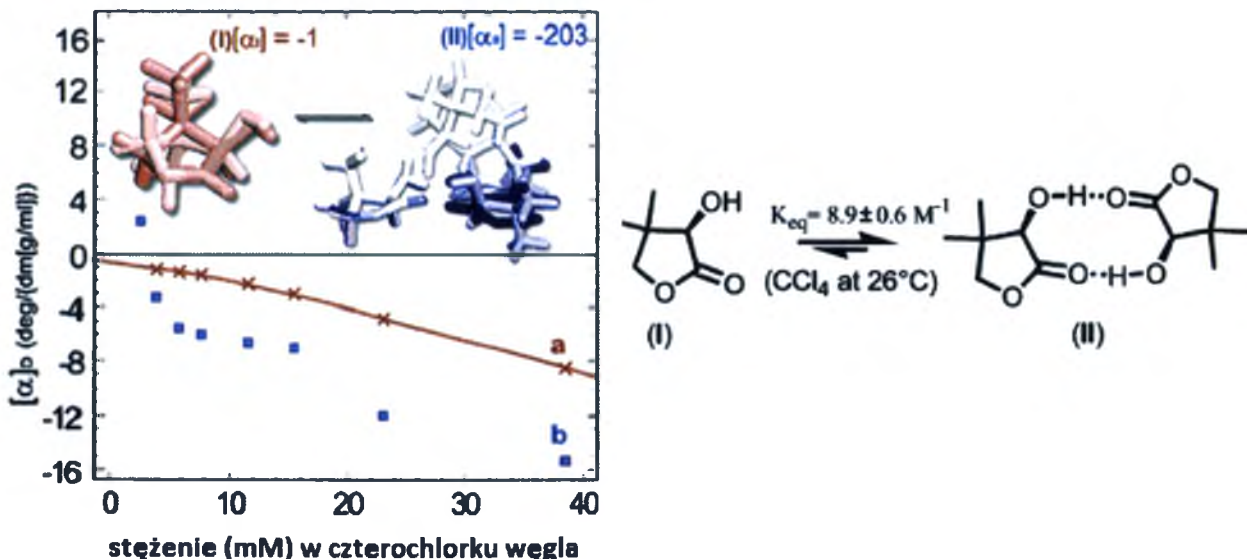
b).

Rys. 58. Zależność skręcalności właściwej od stężenia (R)-naproksenu;
a). roztwory sporządzone w DCM; b). roztwory sporządzone w 70 % metanolu
w układzie stacjonarnym (bez przepływu)- wartości uśrednione.

Warto zauważyć, że roztwory naproksenu wykazują fluktuacje skręcalności właściwej $[\alpha]$. Efekty takie poddano analizie w dalszej części tego rozdziału, jednak na rysunku 58 przedstawiono uśrednione wartości $[\alpha]$ obliczone na podstawie pomiarów opisanych odpowiednio rysunkami 60a i 61a.

Wyniki przedstawione na rysunku 57 oraz 58 świadczą o silnym wpływie stężenia (R)-naproksenu na skręcalność właściwą dla eksperymentu prowadzonego w stałej temperaturze i w tym samym rozpuszczalniku. Ciekawe, że kształt krzywej na rysunku 58 ulega odwróceniu przy zmianie roztworu z DCM na metanol. DCM- funkcja malejąca, metanol- funkcja rosnąca.

Otrzymane wyniki wykazują nieliniową zależność skręcalności właściwej od stężenia. Efekt taki jest znany i opisany w literaturze np. dla układu dimeryzującej cząsteczki (R)-(-)-pantolaktonu (Rys. 59) [150,151]. Można sadzić, że stężenie wywiera istotny wpływ na supramolekularną sieć (R)-naproksenu. Dla samoorganizujących się cząsteczek chiralnych, obserwowana wartość skręcalności właściwej odzwierciedla stan równowagi istniejący pomiędzy monomerem, a powstającymi w układzie dimerami. Nieliniowa zależność skręcalności właściwej od stężenia w mieszaninach dimeryzujących enancjomerów jest przypisywana tworzeniu się w roztworach asocjatów, tzw. efekt Horeau.

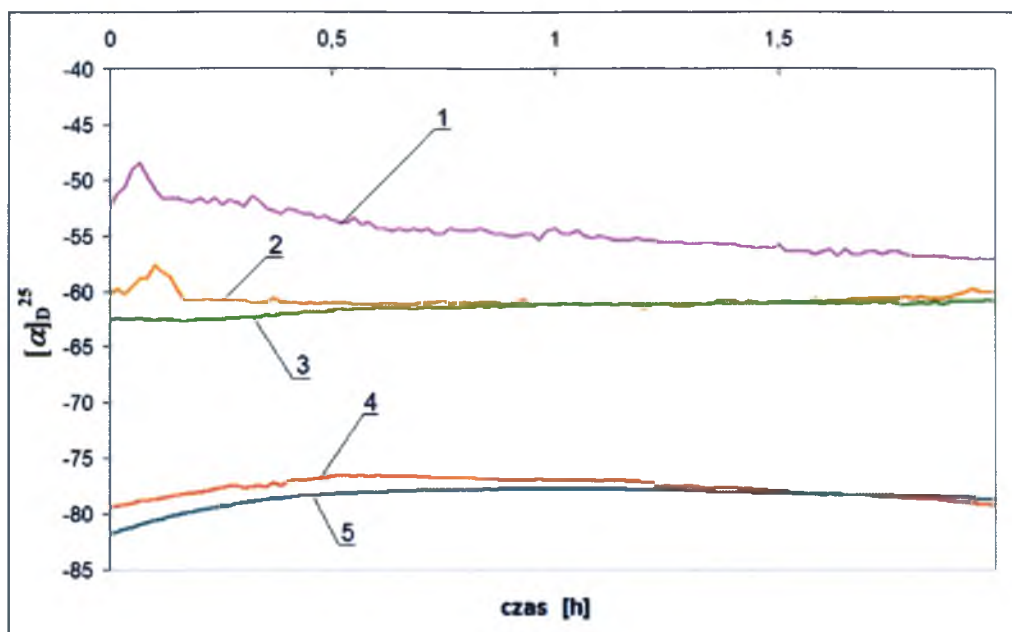


Rys. 59. Nieliniowa zależność skręcalności właściwej (R)-(-)-pantolaktonu od stężenia: a). wartości obliczone b). wartości eksperymentalne [150,151].

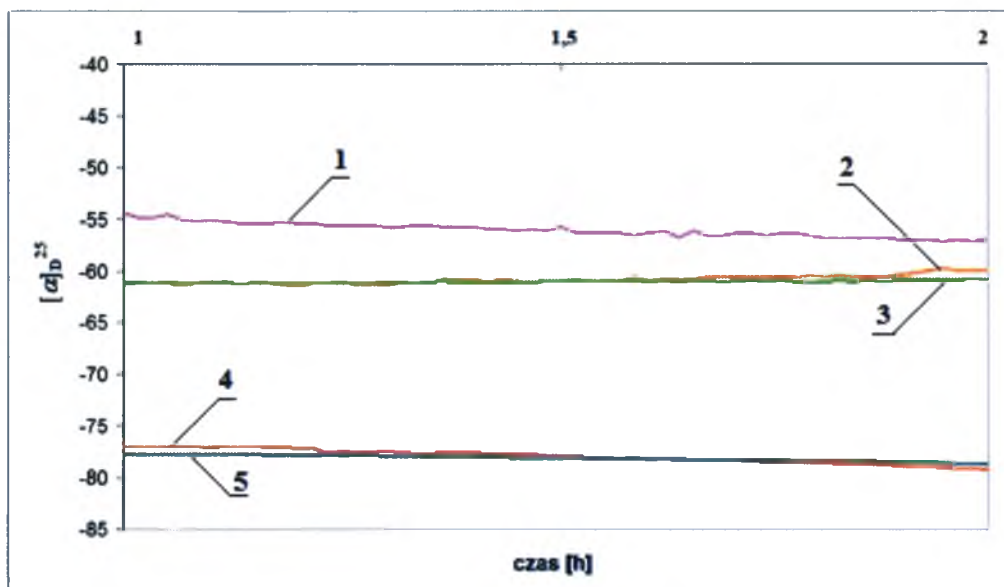
Wykonane pomiary skręcalności właściwej w DCM i metanolu (Rys. 57, Rys. 58) pozwalają wykazać, że dimeryzacja ma istotne znaczenie dla zmian skręcalności naproksenu. I tak w DCM (rozpuszczalnik protonowy) tworzone dimery mogą być stosunkowo trwałe. Zauważyć można dużą różnicę w obserwowanych skręcalnościach oraz silny efekt nieliniowości przy stężeniu 1,50 g/100 ml. Tworzeniem dimerycznych struktur flurbiprofenu wyjaśniano także oscylacje skręcalności właściwej tego związku podczas jego racemizacji [122].

Ze względu na obserwowane wcześniej fluktuacje skręcalności optycznej naproksenu badane roztwory poddano wielokrotnym ciągłym pomiarom skręcalności. Wyniki przedstawiają rysunki 60 i 61.

Analizując roztwór (R)-naproksenu w DCM badany w warunkach statycznych w czasie dwóch godzin (Rys. 60), zauważyć można, że odpowiednie zależne od stężenia różnice w skręcalności są zasadniczo zachowane. Jednak numeryczne wartości dla poszczególnych stężeń nie pozostają stałe, lecz ulegają dostrzegalnym zmianom w czasie. Należy podkreślić, że dla każdego badanego stężenia, obserwowane zmiany w wartości skręcalności właściwej sięgają kilku stopni, czyli nawet do dziesięciu procent wartości początkowej.

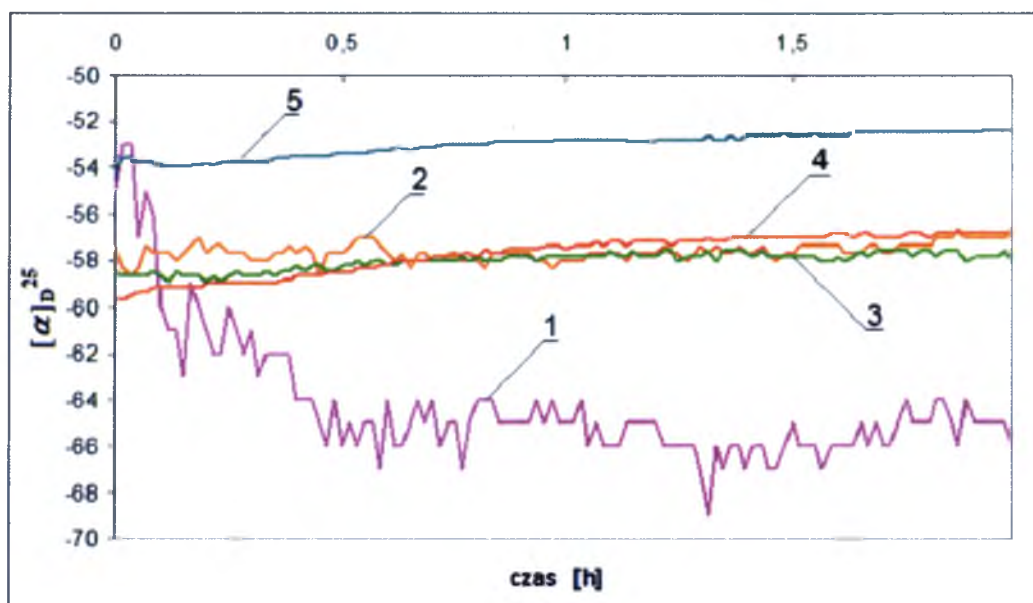


Rys. 60. Zmiany skręcalności właściwej roztworów o zmiennym stężeniu (R)-naproksenu (w DCM) w czasie. Stężenia równe: (1) 0,42 (2) 0,50 (3) 1,00 (4) 1,50 (5) 3,00 g/100 ml. Badania w układzie stacjonarnym (bez przepływu).

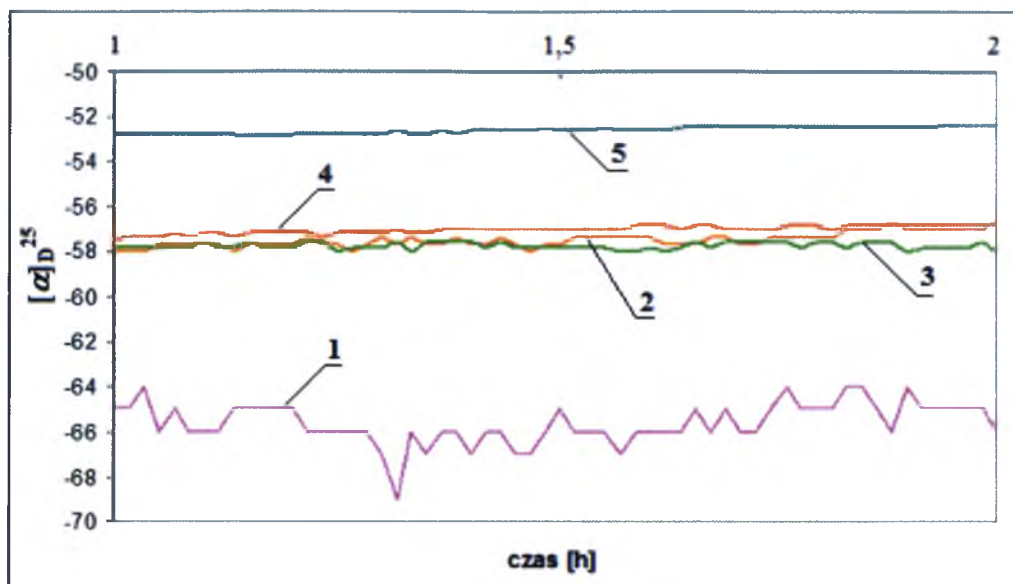


Rys. 60a. Zmiany skręcalności właściwej roztworów o zmiennym stężeniu (R)-naproksenu (w DCM) w czasie po godzinie od rozpoczęcia pomiaru. Stężenia równe: (1) 0,42 (2) 0,50 (3) 1,00 (4) 1,50 (5) 3,00 g/100 ml. Badania w układzie stacjonarnym (bez przepływu).

W przypadku (R)-naproksenu rozpuszczonego w 70 % wodnym metanolu, badanego w warunkach statycznych przez 2 godziny, zależność między stężeniem próbki a skręcalnością jest jeszcze bardziej spektakularna (Rys. 61). W przeciwieństwie do DCM- ograniczona zdolność do tworzenia z naproksem trójwymiarowych sieci, polarne rozpuszczalniki protonowe (zarówno woda jak i MeOH) mogą w znacznym stopniu wpływać na strukturę wiązań wodorowych deformujących asocjaty naproksenu. Dla roztworu o najniższym stężeniu (0,10 g/100 ml) wartości skręcalności zmieniają się w granicach ok. 14 stopni (czyli od ok. -55 st. do ok. -69 stopni), co obrazuje linia 1 na rysunku 61. Im wyższe stężenie naproksenu tym mniej energicznie oscylują odpowiednie wartości skręcalności (linie 2-5), a także zakres tych wahań staje się stopniowo węższy. Dla największego z badanych stężeń (0,80 g/100 ml), zaobserwowano najwyższą wartość skręcalności właściwej, ok. 54 stopni, która w ciągu dwugodzinnego czasu badania zmieniała się tylko o 1 stopień.

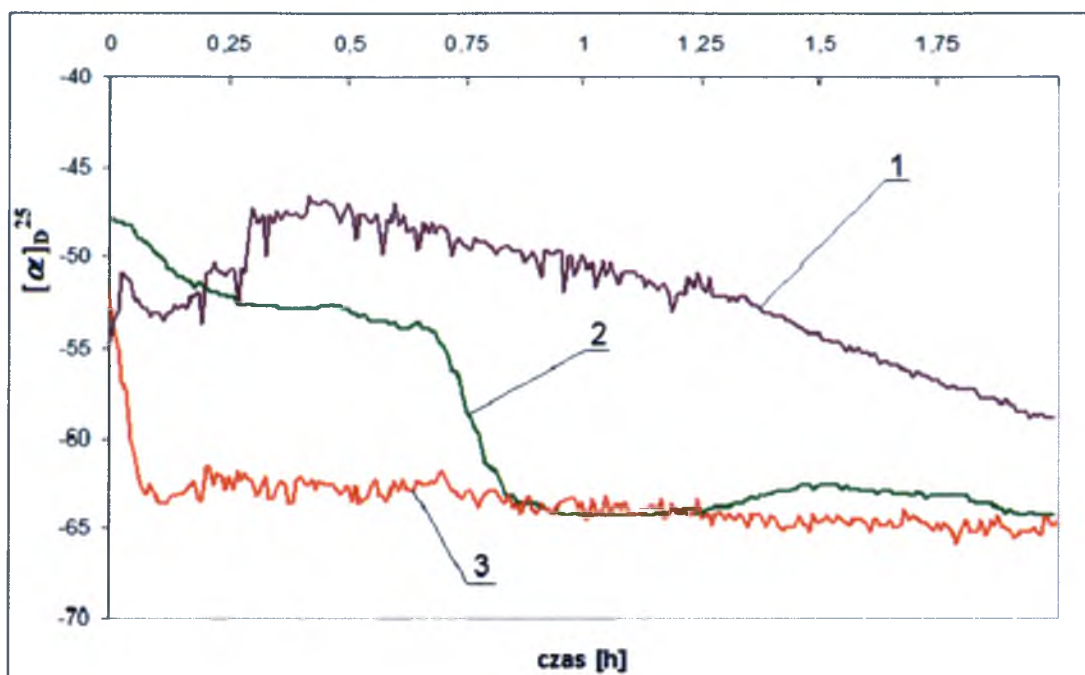


Rys. 61. Zmiany skręcalności właściwej roztworów o zmiennym stężeniu (R)-naproksenu (w 70 % MeOH) w czasie. Stężenia równe: (1) 0,10 (2) 0,30 (3) 0,45 (4) 0,60 (5) 0,80 g/100 ml. Badania w układzie stacjonarnym (bez przepływu).



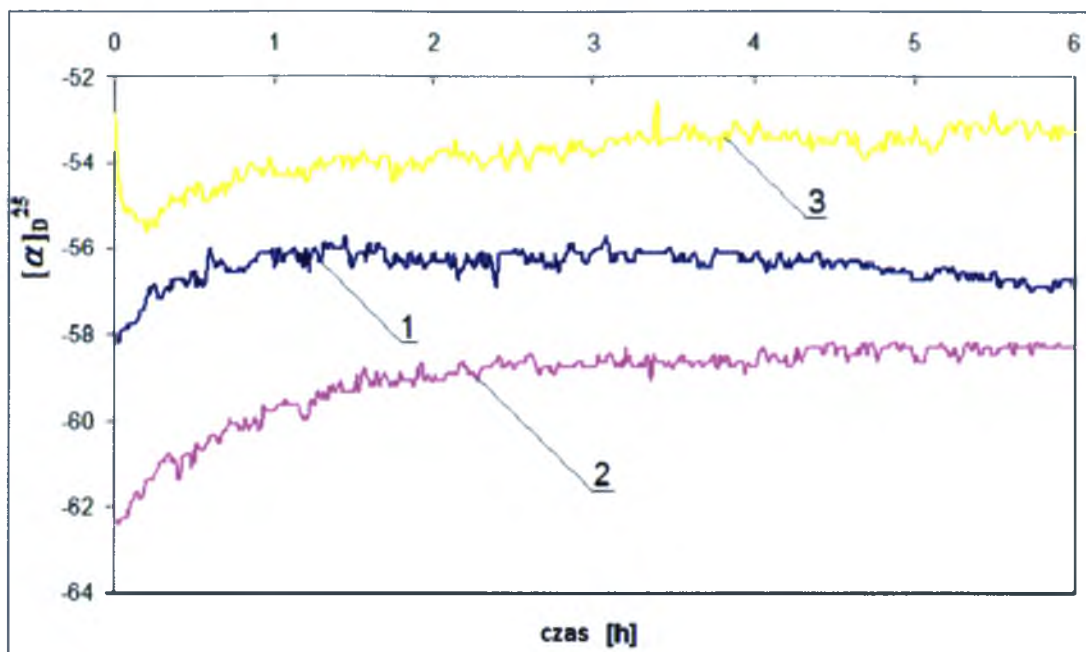
Rys. 61a. Zmiany skręcalności właściwej roztworów o zmiennym stężeniu (R)-naproksenu (w 70 % MeOH) po godzinie od rozpoczęcia pomiaru. Stężenia równe: (1) 0,10 (2) 0,30 (3) 0,45 (4) 0,60 (5) 0,80 g/100 ml. Badania w układzie stacjonarnym (bez przepływu).

Analiza uzyskanych wyników dla eksperymentu ze zmienną siłą przepływu jest skomplikowana. Obserwowane zmiany wartości skręcalności oscylujące w granicach od 10 % do ok. 15 % jednoznacznie wskazują na głęboki wpływ przepływu na uzyskiwane wyniki. Wpływ przepływu na skręcalność roztworu (R)-naproksenu w DCM przedstawiony jest na rysunku 62. Wykres ilustruje zależność skręcalności właściwej od czasu dla wybranego stężenia naproksenu (0,68 g/ml), mierzoną przez 2 godziny bez przepływu (linia 1) oraz z przepływem 0,5 ml/min (linia 2) i 2,0 ml/min (linia 3). Skręcalność właściwa dla wszystkich badanych układów ulega znacznym zmianom. Dla układu bez przepływu różnica wartości skręcalności między pierwszym i ostatnim punktem pomiaru wynosi ok. 10 stopni. Dla pomiarów z przepływem 0,5 i 2,0 ml/min różnice sięgają odpowiednio 16 i 14 stopni.



Rys. 62. Zmiany skręcalności roztworów (R)-naproksenu w DCM mierzonej w funkcji czasu. Stężenie we wszystkich przypadkach wynosi 0,68 g/100 ml, natężenie przepływu równe jest (1) 0 ml/min (2) 0,5 ml/min (3) 2,0 ml/min.

Analogiczne wyniki dla roztworu naproksenu w 70 % metanolu przedstawiono na rysunku 63. Wykres obrazuje zmiany skręcalności właściwej dla wybranego stężenia naproksenu (0,68 g/ml), mierzone przez 6 godzin bez przepływu (linia 1) oraz z przepływami 0,5 ml/min (linia 2) i 5,0 ml/min (linia 3). Początkowa różnica zmierzonych wartości skręcalności dla układów z przepływami wyniosła ok. 9 stopni, w końcowym etapie pomiaru nieznacznie się zmniejszyła, a ostatecznie wyniosła ok. 6 stopni.



Rys. 63. Zmiany skręcalności roztworów (R)-naproksenu w 70 % metanolu mierzonej w funkcji czasu. Stężenie we wszystkich przypadkach wynosi 0,68 g/100 ml, natężenie przepływu równe jest (1) 0 ml/min (2) 0,5 ml/min (3) 5,0 ml/min.

Obserwowane zależności pozwalają na kilka uogólnionych wniosków. Fluktuacje skręcalności właściwej mają znacznie intensywniejszy charakter przy niższych stężeniach naproksenu. Jednocześnie równowaga monomer-dimer powinna mieć istotne znaczenie dla niższych stężeń naproksenu. W takich warunkach istnienie monomeru jest bardziej prawdopodobne, ponieważ cząsteczkom trudniej „odnaleźć” parę do utworzenia dimeru. Wraz ze wzrostem stężenia trwałe dimery, mając niską tendencję do dysocjacji, stabilizują wartość skręcalności. Niesłychanie interesującym efektem jest obniżenie skręcalności przy najmniejszej wartości stężenia naproksenu w metanolu (linia 1 na rysunku 61). Efekt taki można by wyjaśnić tworzeniem sieci wiązań wodorowych z rozpuszczalnikami, a więc monomeryzacją. Można zatem sądzić, że forma monomeru wykazuje większą skręcalność niż dimer (dominujący przy wyższych stężeniach).

Analiza zależności skręcalności właściwej od czasu dla układu stacjonarnego i przepływowego pozwala także na stwierdzenie, że w układzie przepływowym następuje szybka stabilizacja do wartości zbliżonej do tej osiągniętej w układzie stacjonarnym dla podobnego stężenia (linie 2,3 na rysunku 60) tj. do wartości około 64 °. Stabilizacja jest

szybsza dla większego przepływu. Taki obraz sugeruje, że przepływ ułatwia osiągnięcie stanu równowagi dimer-monomer. Zupełnie inny jest kształt krzywych przepływowych dla roztworów metanolowych. Nie obserwuje się tutaj szybkich zmian podobnych do obserwowanych w DCM. Sugeruje to, że utworzona sieć MeOH- naproksen ulega pod wpływem przepływu wolnemu porządkowaniu. Warto tutaj dodać, że obserwowano zmiany skręcalności pod wpływem przepływu dla roztworów DNA [152].

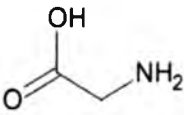
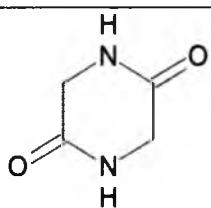
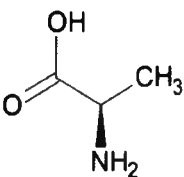
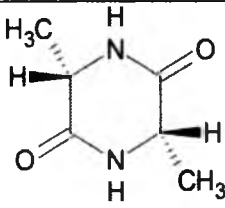
Uderzającym faktem jest chaotyczny charakter mierzonej skręcalności wyjściowych roztworów analitu (dla tych samych wartości stężeń otrzymuje się zmienne wartości skręcalności właściwej) (Rys. 62 i Rys. 63), pomimo bardzo dużej staranności wykonywania pomiarów. Warto zauważyć, że efektu takiego nie obserwuje się dla roztworów np. cukrów, które wykazują pełną stabilność pomiaru.

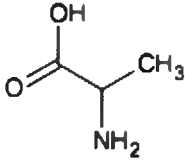
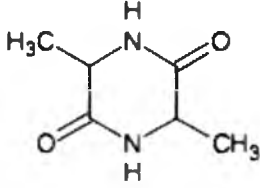
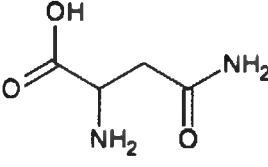
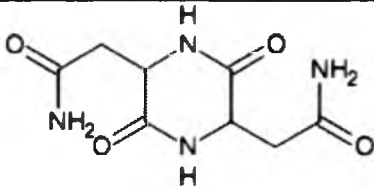
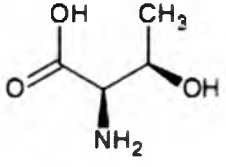
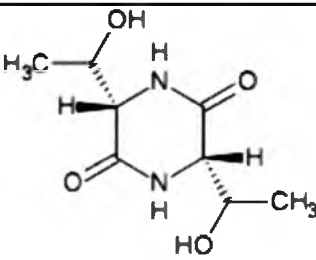
4.9. Przeprowadzone syntezy

4.9.1. Synteza analogów dimerów kwasów karboksylowych [(1)-(5)]

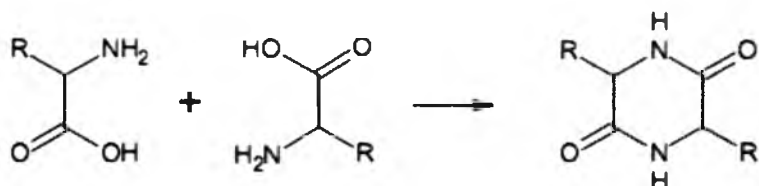
W ramach badań nad rotacjami molekularnymi przeprowadzono szereg syntez modelowych związków, których budowa przypomina dimery kwasów karboksylowych. Rolę tą mogą pełnić cykliczne dipeptydy, diketopiperazyny (związki (1)-(5)). Układy takie ze względu na obecność zamkniętego pierścienia są trwale w odniesieniu do niestabilnych w roztworze dimerów cyklicznych tworzonych przez cząsteczki profenów. W tabeli 10 przedstawiono wzory strukturalne otrzymanych związków.

Tabela 10. Otrzymane analogi dimerów kwasów karboksylowych.

Wyjściowy aminokwas	Produkt kondensacji
 glicyna	 2,5-dioksopiperazyna (1)
 L-alanina	 3S,6S-dimetylo-2,5-dioksopiperazyna (2)

 <p>DL-alanina</p>	 <p>3,6-dimetylo-2,5-dioksopiperazyna (3)</p>
 <p>DL-asparagina</p>	 <p>diamid kwasu 3,6-dioksopiperazyno-2,5-dioctowego (4)</p>
 <p>L-treonina</p>	 <p>3S,6S-bis(1-hydroksyetylo)-2,5-dioksopiperazyna (5)</p>

Ogólny schemat przeprowadzonych reakcji przedstawiono poniżej.



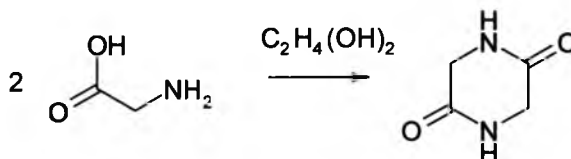
Rys. 64. Schemat kondensacji aminokwasów do diketopiperazyn.

Wszystkie diketopiperazyny otrzymano w wyniku reakcji kondensacji odpowiednich aminokwasów w glikolu etylenowym (1,2,4,5) [153,154] lub stopionym fenolu (3) [155] (Tabela 11).

Tabela 11. Ogólna procedura otrzymywania diketopiperazyn.

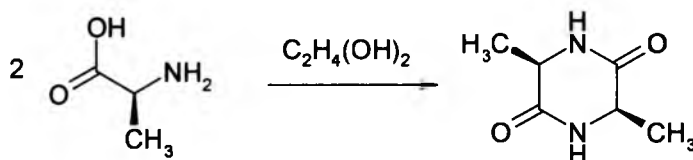
Schemat reakcji oraz uwagi dotyczące jej przebiegu

2,5-diketopiperazyna; cyklo-(Gly)₂ (1)



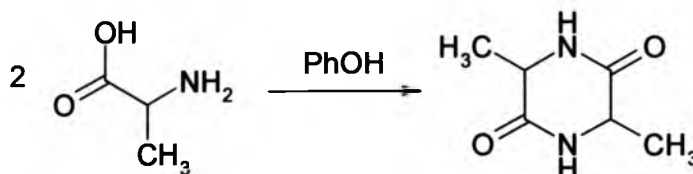
2,5-diketopiperazynę otrzymano w wyniku reakcji glicyny z glikolem etylenowym. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano na łaźni olejowej, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia. Podczas ogrzewania roztwór zmieniał barwę od żółtej, przez pomarańczową, brązową do finalnej ciemnobrązowej.

3S,6S-dimetylo-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(L-Ala)₂ (2)



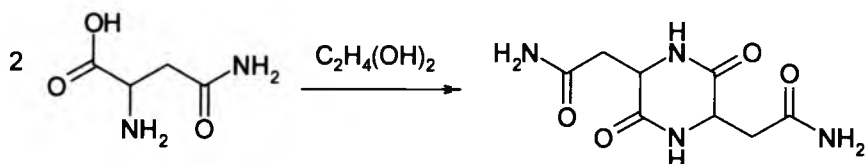
3S,6S-dimetylo-2,5-diketopiperazynę otrzymano w wyniku reakcji L- α -alaniny z glikolem etylenowym. Całość ogrzewano na łaźni olejowej, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia. Roztwór zmieniał barwę od żółtej do brązowej. Ochłodzenie mieszaniny skutkowało otrzymaniem końcowego produktu barwy białej.

3,6-dimetylo-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(DL-Ala)₂ (3)



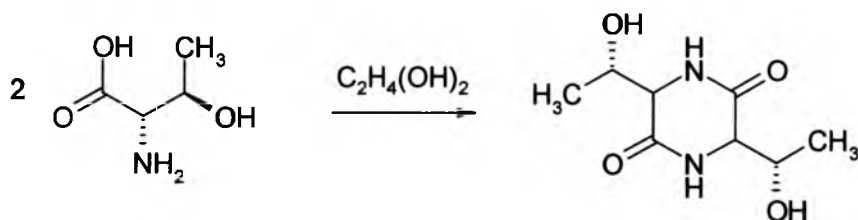
3,6-dimetylo-2,5-diketopiperazynę uzyskano w sposób odmienny niż resztę diketopiperazyn, mianowicie w reakcji DL-alaniny z fenolem w ksylenie poprzez utrzymywanie układu w stanie wrzenia w atmosferze azotu. W reakcji otrzymano biały osad.

Diamid kwasu 3,6-diketopiperazyno-2,5-dioctowego; cyklo-(DL-Asn)₂ (4)



Diamid kwasu 3,6-diketopiperazyno-2,5-dioctowego otrzymano w reakcji DL-asparaginy i glikolu etylenowego. Substraty ogrzewano na łaźni olejowej, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia. Roztwór zabarwił się na brązowo. Ochłodzenie roztworu pozwoliło uzyskać jasnobrązowy pożądany produkt.

3S,6S-bis(1-hydroksyetylo)-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(L-Thr)₂ (5)



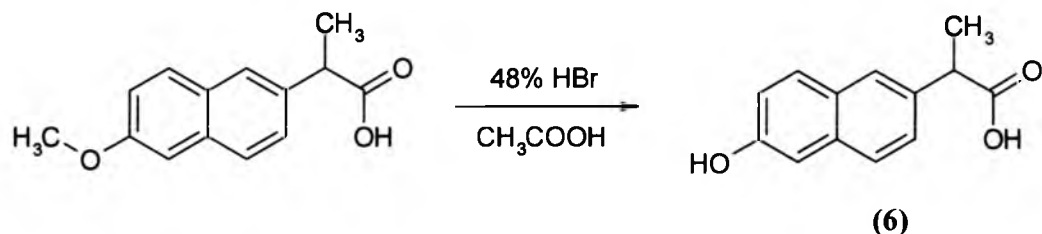
3S,6S-bis(1-hydroksyetylo)-2,5-diketopiperazynę otrzymano stosując reakcję kondensacji L-treoniny w glikolu etylenowym. Całość ogrzewano na łaźni olejowej. Podczas ogrzewania roztwór zmieniał barwę od żółtej do brązowej. Początkowo uzyskany biały osad o temperaturze topnienia 241-252 °C, wskazywał na nieprzereagowaną treoninę. Odparowanie rozpuszczalnika skutkowało otrzymaniem właściwego kremowego osadu.

Niskocząsteczkowe aminokwasy (glicyna, alanina) rozpuszczały się w rozpuszczalniku zaraz po ogrzaniu. Asparagina i treonina przechodziły do roztworu sukcesywnie w trakcie prowadzenia reakcji w podwyższonej temperaturze. Po zakończeniu reakcji diketopiperazyny otrzymane odpowiednio z glicyny (1) i alaniny (2) выпадаły z roztworu w postaci osadu po ochłodzeniu w wodzie z lodem, natomiast te otrzymane z asparaginy (4) i treoniny (5) wymagały odparowania glikolu pod bardzo niskim ciśnieniem. 3,6-dimetylo-2,5-diketopiperazynę (3) otrzymano metodą fenolową, pozostałe diketopiperazyny za pomocą reakcji kondensacji w glikolu etylenowym.

Niska rozpuszczalność otrzymanych związków nie pozwoliła niestety na ich badania metodą TLC. W ramach badań nad rotacjami molekularnymi podjęto próbę przebadania zdolności zsyntezowanych diketopiperazyn do tworzenia uporządkowanych warstw nanomolekularnych za pomocą zestawu wagi Langmuira oraz przeprowadzono badanie tzw. efektu koherentnej kolektywnej precesji. Opisane wyżej badania wykonano dzięki współpracy z Instytutem Chemii Fizycznej PAN w Warszawie. Ze względu na symetryczną budowę, a przede wszystkim dużą hydrofilowość, związki te nie były zdolne do tworzenia fazy uporządkowanej, która utrzymywałaby się na powierzchni wody. W związku z powyższym w kolejnym etapie badań zsyntezowałam analog naproksenu o wydłużonej strukturze, poprzez dodanie długiego łańcucha alifatycznego do macierzystej cząsteczki. Taka modyfikacja struktury powinna sprzyjać uporządkowywaniu się cząsteczek oraz pozwolić na uzyskanie efektu kolektywnej rotacji. Badania tej pochodnej są obecnie w toku (Instytut Chemii Fizycznej, PAN Warszawa).

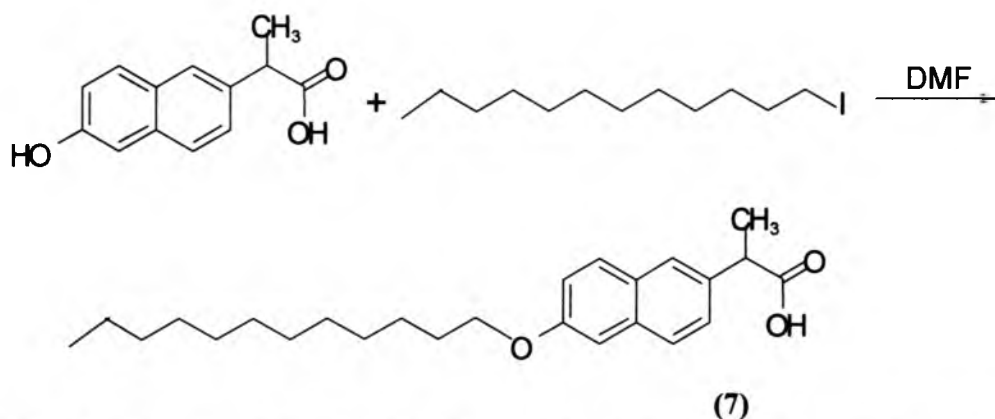
4.9.2. Synteza modelowych śmigieł molekularnych z jednostką naproksenu [156]

4.9.2.1. Kwas α -metylo-6-hydroksy-2-naftalenowy (6)



Kwas α -metylo-6-hydroksy-2-naftalenowy (barwy białej) będący półproduktem w syntezie kwasu α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowego otrzymano poprzez potraktowanie roztworu naproksenu w lodowatym kwasie octowym 48 % wodnym roztworem HBr i ogrzewanie uzyskanej mieszaniny reakcyjnej na łaźni olejowej w podwyższonej temperaturze [156].

4.9.2.2. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy (7)

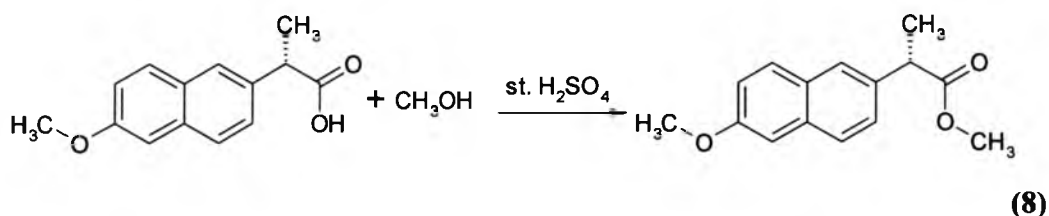


Uzyskany kwas α -metylo-6-hydroksy-2-naftalenowy posłużył do dalszej syntezy głównego produktu. Mieszaninę zawierającą kwas (6), metanolan sodu oraz 1-jodododekan mieszano na mieszadle magnetycznym. Frakcję organiczną otrzymaną po ekstrakcji ogrzewano do momentu uzyskania homogenicznego roztworu. Ochłodzenie roztworu do temperatury pokojowej pozwoliło otrzymać białe kryształy kwasu α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowego (7) [156].

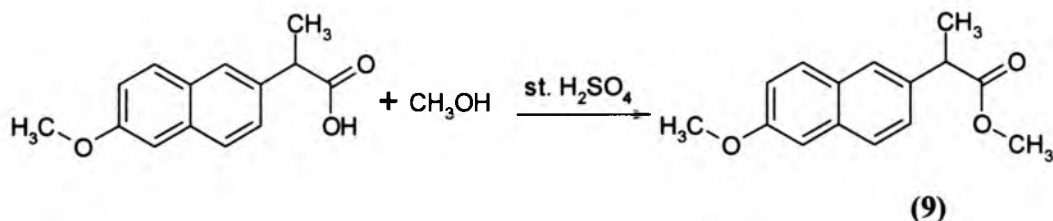
4.9.3. Syntezy estrów naproksenu (do preferencyjnej krystalizacji) [157]

W celu przeprowadzenia procesu preferencyjnej krystalizacji profenów zsyntezowałam odpowiednie estry naproksenu. Poszczególne pochodne (**8-10**) otrzymano stosując reakcję estryfikacji.

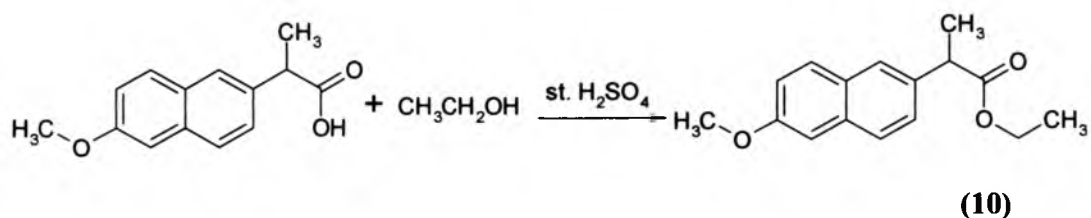
4.9.3.1. (S)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (**8**)



4.9.3.2. (RS)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (**9**)



4.9.3.3. (RS)-ester etylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (**10**)



Roztwór wybranego enancjomeru lub racemat kwasu alfa-metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (naproksenu) sporządzony odpowiednio w metanolu bądź etanolu, z dodatkiem stężonego kwasu siarkowego, mieszano pod refluxem. Po upływie doby mieszaninę reakcyjną rozcieńczono za pomocą dichlorometanu, przemyto wodnym nasyconym roztworem wodorowęglanu potasu i suszono. Odparowanie rozpuszczalnika pozwoliło otrzymać pożądany ester metylowy lub etylowy naproksenu.

4.10. Preferencyjna krystalizacja

W ramach niniejszej pracy doktorskiej podjęłam próbę przeprowadzenia procesu preferencyjnej krystalizacji otrzymanych przeze mnie estrów naproksenu. Eksperyment prowadzono przy użyciu różnych możliwych wariantów przeprowadzenia preferencyjnej krystalizacji, biorąc pod uwagę wpływ różnego sposobu zarodkowania mieszaniny racemicznej kryształami czystego enanjiomeru oraz stosując różne potrzebne w procesie dodatki zasad organicznych (np. NaOMe) i nieorganicznych (np. NaOH). W celu wzmocnienia procesu deracemizacji mieszaniny racemicznej zastosowano mieszanie magnetyczne lub ultradźwięki w obecności pierścieni szklanych. Kolejnym eksperymentem było przeprowadzenie procesu deracemizacji estru etylowego naproksenu połączonego z jednoczesną transestryfikacją do estru metylowego (S)-naproksenu. Oba procesy przeprowadzano wielokrotnie, z zastosowaniem różnych nadmiarów enancjomerycznych oraz prowadząc reakcje w zmiennych okresach czasowych (od 5 do 14 dni). Kontrolę czystości enancjomerycznej prowadzono za pomocą polarymetrii. Niestety nie udało się odtworzyć z zadawalającym wynikiem opisanych w literaturze [157] eksperymentów.

Enancjoselektywny proces krystalizacji wymaga szczegółowej wiedzy na temat stanów równowagi pomiędzy substancjami stałymi i ciekłymi. Specyficzne cechy optymalnego przebiegu procesu zależą w dużym stopniu od rodzaju diagramu fazowego charakterystycznego dla badanego układu. Dokładne zrozumienie zjawisk związanych z zarodkowaniem i wzrostem kryształów jest skomplikowane. Wszystko to utrudnia efektywne przeprowadzenie procesu (literatura podaje szereg doświadczeń, które nie zakończyły się powodzeniem [44,158]). Do modelowania preferencyjnej krystalizacji stosowano wiele nowych koncepcji [159,160]. Są one coraz szerzej stosowane do opisywania krystalizacji cząsteczek [161].

5. Podsumowanie

Podsumowując, prosta cząsteczka profenu tworzyć może niezwykle skomplikowany układ dimeru lub polimeru stabilizowany wiązaniami wodorowymi. W niniejszej pracy potwierdziłam występowanie dynamicznych zmian skręcalności właściwej roztworów tych związków w różnych rozpuszczalnikach w warunkach statycznych oraz podczas transportu. Udowodniłam także, że skręcalność właściwa (R)-naproksenu zależy od stężenia związku. Po raz pierwszy zarejestrowałam takie zmiany skręcalności właściwej naproksenu. Podobne efekty zostały opisane w literaturze dla innych związków, np. (R)-(-)-pantolaktonu [150,151]. Z drugiej strony znany i opisany jest efekt spontanicznej zmiany konfiguracji estru (R)-naproksenu podczas mieszania w zawieszynie [38,43]. Przeprowadzone badania nie pozwalają na rozstrzygnięcie, czy obserwowane zmiany skręcalności wynikają ze zmian dynamicznych związanych z tworzeniem supramolekularnych asocjatów profenów, czy też z bezpośrednią zmianą konfiguracji związku analogiczną do tej obserwowanej podczas preferencyjnej krystalizacji. Wydaje się jednak, że eksperymenty prowadzone w krótkim czasie można wyjaśnić przede wszystkim dynamiką zmian monomer- dimer.

Przeprowadzone w ramach niniejszej pracy doktorskiej badania nie wykluczają możliwości wyjaśnienia efektu LR-TLC za pomocą teorii opartej na rotacjach molekularnych, ale również nie przynoszą pełnego potwierdzenia założonej hipotezy badawczej. Na uwagę zasługuje fakt, iż struktura molekularna badanych chiralnych związków wykazuje podobieństwo strukturalne do makroskopowych śmigieł. Ważnym wnioskiem jest niezaprzeczalna różnica w obrazie TLC uzyskanym na podłożu Al_2O_3 w stosunku do SiO_2 . Ważne jest też, że można znaleźć związki, które efektu LR-TLC nie wykazują, np. kwas p-aminobenzoowy. Fakt ten wskazuje, że efekt LR-TLC związany jest z resztkową chiralnością mikrokryształicznej struktury SiO_2 . Pomimo trudności techniki wielokrotne powtórzenia eksperymentów TLC potwierdzają występowanie efektu LR-TLC.

Z jednej strony, boczne przemieszczenie analitów stanowi problem w oznaczaniu chiralnych związków, ponieważ znacznie utrudnia ich densytometryczne wykrywanie i ocenę ilościową (efekt LR-TLC może powodować zafałszowanie ilościowej analizy badanego związku, jeśli densytometrowaniu poddamy tylko wąskie pasmo w zakresie prostoliniowym gdzie spodziewamy się znaleźć analit). Jednak z drugiej strony, badany

efekt jest interesującym przykładem wpływu dynamiki układu molekularnego na analityczną metodę TLC, otwierając tym samym nowy obszar doświadczalny dla maszyn molekularnych. Odchylenie drogi migracji związków od spodziewanej prostoliniowości daje chromatografii cienkowarstwowej możliwość zastosowania tej metody jako ważnego nowego narzędzia eksperymentalnego.

Podjęłam próbę uproszczenia dynamicznego układu dimeru profenowego poprzez syntezę modelowych diketopiperazyn w nadziei, że takie związki umożliwią rozwiązanie zagadki profenów. Niestety związki te okazały się praktycznie nierozpuszczalne w układach przydatnych dla TLC.

Przeprowadzone w niniejszej pracy doktorskiej badania pozwoliły na odkrycie nowych ciekawych efektów supramolekularnej chiralności układów profenowych. Właściwości takie mogą być przydatne dla zdolności do preferencyjnej krystalizacji biologicznie aktywnych enancjomerów, co jest istotnym problemem produkcji preparatów farmaceutycznych tych leków. Lepsze zrozumienie właściwości chiralnych związków może pozwolić na wdrożenie do przemysłu farmaceutycznego nowych nanotechnologicznych rozwiązań w procesie produkcji leków, rozwój nowych technologii oraz gospodarki. Badania właściwości chiralnych śmigieł są również ważnym elementem nanotechnologii, gdzie zastosowanie molekularnych mechanizmów, nanosilników czy nanowirników, naśladujących rzeczywiste makroskopowe obiekty, np. śmigła samolotów czy wiatraków, odgrywa kluczową rolę. Rotujące cząsteczki mogą znaleźć również zastosowanie przy budowie tzw. nanomaszyn.

6. Część eksperymentalna

6.1. Przeprowadzone syntezy

6.1.1 Sprzęt wykorzystany w syntezach

Syntezy zostały przeprowadzone z wykorzystaniem standardowego sprzętu stanowiącego wyposażenie laboratorium.

6.1.2. Pomiary eksperymentalne

Temperatury topnienia otrzymanych związków oznaczono przy pomocy aparatu pomiarowego Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, USA). Rozpuszczalniki odparowywano za pomocą próżniowego ewaporatora rotacyjnego Laboratora 400 (Heidolph). Widma ^1H NMR zostały wykonane w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego na spektrometrze NMR Bruker (BrukerBioSpin Comp., Karlsruhe, Germany) model Avance III 400 MHz FT-NMR, z użyciem częstotliwości 400 oraz 100 MHz, a także na spektrometrze Bruker Avance 500 MHz (sonda szerokopasmowa AutoX DB 8965), z zastosowaniem częstotliwości 500 i 125 MHz. Wzorcem użytym w przypadku widm ^1H -, ^{13}C -NMR był tetrametylosilan- $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$. Przesunięcia chemiczne (δ) podano w skali ppm, a stałe sprzężenia spinowego (J) w Hz. Łatwowymienialne protony w widmach ^1H NMR nie były zawsze oznaczane.

6.1.3. Odczynniki używane do syntez

Polskie Odczynniki Chemiczne S.A. Gliwice: glikol etylenowy, glicyna, P_2O_5 , metaliczny sód, kwas siarkowy 96 %

Fluka: DL-alanina

Roanal Budapest: L-alanina, L-treonina, DL-asparagina, glicyloglicyna

Chempur: toluen, dimetyloforamid, heksan, metanol, etanol, aceton, 99 % kwas octowy, ksylen, 2-propanol, octan etylu

Acros Organie: 1-jodododekan, HBr

Sigma Aldrich: (S)-naproksen, (RS)-naproksen

Wszystkie stosowane do syntezy odczynniki i rozpuszczalniki oczyszczano według standardowych procedur dostępnych w literaturze [153,162,163] oraz suszono nad sitami molekularnymi 4A (Acros Organics).

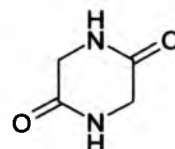
6.2. Syntezy diketopiperazyn [153-155]

6.2.1. 2,5-diketopiperazyna; cyklo-(Gly)₂ (1)

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 ml zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i mieszadło magnetyczne umieszczono glicynę (0,04 mol, 3 g) i glikol etylenowy (0,26 mol, 14,4 ml). Całość ogrzewano na łaźni olejowej, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia w ciągu 30 min. Następnie kolbę ochłodzono w wodzie z lodem, a surowy jasnobrązowy produkt sączo pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymaną substancję krystalizowano z 2-propanolu i suszono na powietrzu. Otrzymano 0,915 g suchego produktu barwy brązowej o temperaturze topnienia 305 °C (lit. t.t. = 308-309 °C) [164]. Wydajność reakcji wyniosła 40,1 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 500 MHz, ppm): 8,01 (s, 2H, N-H); 3,71 (d, *J* = 2,06 Hz, 4H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 125 MHz, ppm): 166,5; 44,8.



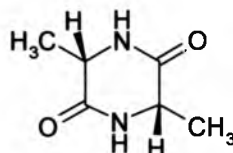
6.2.2. 3S,6S-dimetylo-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(L-Ala)₂ (2)

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 ml zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i mieszadło magnetyczne umieszczono L- α -alaninę (0,04 mol, 3,564 g) i glikol etylenowy (0,26 mol, 14,4 ml). Całość ogrzewano na łaźni olejowej, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia w ciągu 30 min. Następnie kolbę ochłodzono w wodzie z lodem a surowy, puszysty biały osad sączo pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymaną substancję krystalizowano z 2-propanolu i suszono na powietrzu. Otrzymano 0,760 g

bezbarwnego suchego produktu o temperaturze topnienia 278 °C (lit. t.t. = 277-280 °C) [164]. Wydajność reakcji wyniosła 26,7 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 500 MHz, ppm): 8,09 (s, 2H, N-H); 3,85 (m, 2H); 1,24 (t, *J* = 6,89 Hz, 6H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 125 MHz, ppm): 169,5; 169,2; 50,4; 50,3 19,4; 18,9.

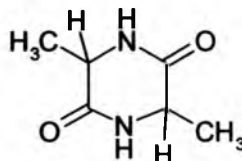


6.2.3. 3,6-dimetylo-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(DL-Ala)₂ (3)

W kolbie okrągłodennej o pojemności 250 ml zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i mieszadło magnetyczne umieszczono DL-alaninę (5 g), fenol (15 g), ksylen (90 ml) i tlenek fosforu (0,1 g). Całość ogrzewano na łaźni olejowej w atmosferze azotu, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia w ciągu 8,5 godz. Ksylen odparowano na wyparce rotacyjnej, a otrzymany osad rozpuszczono na ciepło w acetonie. Roztwór wstawiono na noc do lodówki. Uzyskano kryształy o temperaturze topnienia 258-264 °C. Druga krystalizacja dała 0,085 g produktu o temperaturze topnienia 266,6-277,6 °C z rozkładem (lit. t.t. = 272-275 °C) [164]. Wydajność reakcji wyniosła 3 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 500 MHz, ppm): 8,08 (s, 2H, N-H); 3,84 (m, 2H); 1,25 (t, *J* = 6,99 Hz, 6H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 125 MHz, ppm): 169,5; 169,2; 50,4; 50,3 19,4; 19,0.

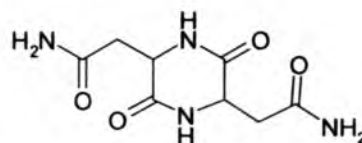


6.2.4. Diamid kwasu 3,6-diketopiperazyno-2,5-dioctowego; cyklo-(DL-Asn)₂ (4)

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 ml zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i mieszadło magnetyczne umieszczono DL-asparaginę (0,04 mol, 5,28 g) i glikol etylenowy (0,26 mol, 14,4 ml). Całość ogrzewano na łaźni olejowej, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia w ciągu 2,5 godz. Następnie kolbę ochłodzono w wodzie z lodem. Roztwór wstawiono na noc do lodówki. Z roztworu odparowano glikol pod zmniejszonym ciśnieniem (17 hPa). Otrzymany produkt barwy jasnobrązowej krystalizowano z 2-propanolu i suszono na powietrzu. Otrzymano 0,356 g suchego produktu o temperaturze topnienia 219 °C z rozkładem (lit. t.t. = 275 °C) [165]. Wydajność reakcji wyniosła 7,8 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 500 MHz, ppm): 8,32 (s, 2H, N-H); 4,04 (s, 4H, N-H₂); 3,55 (t, *J* = 4,02 Hz, 4H); 3,42 (kw, *J* = 7,04, 2H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 125 MHz, ppm): 172,3; 171,1; 168,6; 167,4; 57,8; 56,6; 36,5; 25,4.

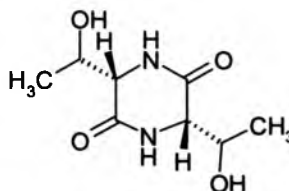


6.2.5. 3S,6S-bis(1-hydroksyetylo)-2,5-diketopiperazyna; cyklo-(L-Thr)₂ (5)

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 ml zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i mieszadło magnetyczne umieszczono L-treoninę (0,04 mol, 4,76 g) i glikol etylenowy (0,26 mol, 14,4 ml). Całość ogrzewano na łaźni olejowej, utrzymując układ w stanie łagodnego wrzenia w ciągu 2,5 godz. Następnie kolbę ochłodzono w wodzie z lodem. Otrzymany osad o temperaturze topnienia 241-252 °C odsączono. Z przesączu odparowano glikol pod zmniejszonym ciśnieniem (17 hPa). Otrzymany produkt barwy kremowej krystalizowano z 2-propanolu i suszono na powietrzu. Otrzymano 0,168 g suchego produktu o temperaturze topnienia 260 °C z rozkładem (lit. t.t. = 263 °C) [166]. Wydajność reakcji wyniosła 4,5 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 500 MHz, ppm): 8,15 (s, 2H, O-H); 7,94 (s, 2H, N-H); 4,00 (m, 2H); 3,41 (t, $J = 2,62$, 2H); 1,00 (d, $J = 6,33$, 6H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 125 MHz, ppm): 168,8; 167,6; 68,4; 67,8; 60,7; 59,4; 20,3; 17,5.



6.3. Syntezy potencjalnych śmigieł molekularnych

6.3.1. Syntezy półproduktów

6.3.1.1. Metanolan sodu NaOCH_3

W kolbie okrągłodennej o pojemności 250 ml umieszczono metanol (50 ml) oraz metaliczny sód (3,1 g). Kolbę chłodzono w mieszaninie wody z lodem. Gdy cały sód uległ rozpuszczeniu mieszaninę reakcyjną odparowano do sucha na wyparce rotacyjnej. Następnie do kolby dodano toluenu (15 ml) i odparowano rozpuszczalnik do sucha otrzymując świeży biały osad metanolanu sodu o temperaturze topnienia $127\text{ }^{\circ}\text{C}$ (lit. t.t. = $127\text{ }^{\circ}\text{C}$) [167].

6.3.1.2. Bufor octanowy ($\text{pH} = 4$)

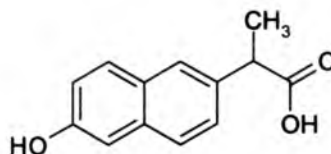
W zlewce o pojemności 150 ml zmieszano 41 ml 0,2 M roztworu kwasu octowego oraz 9 ml 0,2 M roztworu octanu sodowego i uzupełniono wodą destylowaną do 100 ml. 0,2 M roztwór kwasu octowego otrzymano z 11,55 ml lodowatego kwasu octowego uzupełnionego wodą destylowaną do objętości 1l. 0,2 M roztwór octanu sodowego otrzymano przez rozpuszczenie 16,4 g CH_3COONa lub 27,2 g $\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$ i uzupełnienie roztworu wodą destylowaną do objętości 1l [168].

6.3.1.3. Kwas α -metylo-6-hydroksy-2-naftalenowy (6)

W kolbie okrągłodennej o pojemności 25 ml umieszczono roztwór naproksenu (1,15 g, 5 mmoli) w lodowatym kwasie octowym (2,5 ml), potraktowano 48 % wodnym roztworem HBr i ogrzewano na łaźni olejowej w temperaturze 150 °C przez 3 godziny. Większość rozpuszczalnika oraz kwas oddestylowano, a mieszaninę reakcyjną ochłodzono do temperatury pokojowej. Do otrzymanego osadu dodano H₂O (20 ml), mieszano przez 30 minut, po czym odsączono, przemyto wodą i heksanem. Osad suszono pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując 1,04 g białawego osadu o temperaturze topnienia 181-188 °C (lit. t.t. = 182-184 °C) [156]. Wydajność reakcji wyniosła 96 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz, ppm): 9,80 (s, 1H, OH); 7,72 (d, $J = 8,64$, 1H, aromat); 7,62 (d, $J = 8,33$, 2H, aromat); 7,31 (dd, $J_1 = 1,63$, $J_2 = 8,56$, 1H, aromat); 7,05 (m, 2H, aromat); 3,74 (kw, $J = 7,07$, 1H); 1,42 (d, $J = 7,11$, 3H).

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 100 MHz, ppm): 176,0; 155,6; 135,8; 134,0; 129,7; 129,6; 128,1; 126,6; 126,0; 119,2; 108,9; 45,1; 18,9.



6.3.2. Syntezy główne

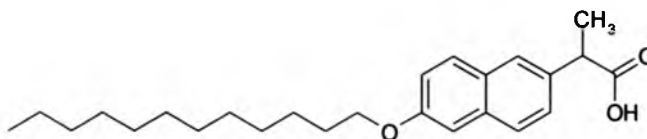
6.3.2.1. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy (7)

Do kolby okrągłodennej o pojemności 50 ml zawierającej roztwór kwasu alfa-metylo-6-hydroksy-2-naftalenowego (4,6 mmola, 1 g) w metanolu (11,6 ml) dodano metanolanu sodu (0,5 g). Rozpuszczalnik odparowano pod próżnią i zastąpiono DMF (13,9 ml). Następnie dodano 1-jodododekanu (2,7 mmola, 0,68 ml). Po upływie 90 minut odparowano rozpuszczalnik w warunkach próżniowych w 50 °C. Otrzymany osad podzielono między bufor octanowy o pH = 4 i octan etylu. Frakcje z octanem etylu ogrzewano do 60 °C po czym schłodzono do temperatury pokojowej otrzymując 0,36 g białych kryształów. Rekrystalizacja osadu z metanolu pozwoliła otrzymać 0,16 g białego

osadu o temperaturze topnienia 95 °C (lit. t.t. = 96-97 °C) [156]. Wydajność reakcji wyniosła 35 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 400 MHz, ppm): 7,76 (m, 2H, aromat); 7,70 (s, 1H, aromat); 7,36 (d, *J* = 8,72, 1H, aromat); 7,26 (s, 1H, aromat); 7,13 (d, *J* = 8,89, 1H, aromat); 4,07 (t, *J* = 6,48, 2H); 3,87 (kw, *J* = 6,43, 1H); 1,75 (m, 2H); 1,48 (d, *J* = 6,78, 3H); 1,27 (s, 18H); 0,85 (t, *J* = 6,10, 3H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 100 MHz, ppm): 174,4; 157,0; 136,1; 133,8; 129,6; 128,8; 127,4; 126,6; 126,0; 119,4; 108,9; 106,9; 45,0; 31,8; 29,5; 29,3; 29,2; 29,1; 29,0; 28,5; 26,0; 25,7; 22,6; 18,7; 14,4.



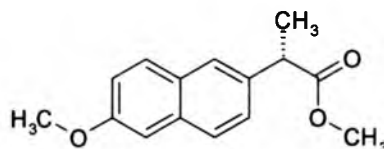
6.3.3. Syntezy estrów naproksenu (do preferencyjnej krystalizacji) [157]

6.3.3.1. (S)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (8)

Do kolby okrągłodennej zaopatrzonej w mieszkadło magnetyczne o pojemności 25 ml zawierającej roztwór (S)-kwasu alfa-metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (1,7 mmola, 0,35 g) w metanolu (15 ml) dodano 3 krople stężonego kwasu siarkowego. Mieszaninę reakcyjną mieszano 24 godziny pod refluxem, poczym rozcieńczono ją za pomocą dichlorometanu (ok. 4 ml), przemyto wodnym nasyconym roztworem wodorowęglanu potasu i suszono nad Na₂SO₄. Odparowanie rozpuszczalnika pozwoliło otrzymać 0,23 g produktu o temperaturze topnienia 91,5 °C (lit. t.t. = 90-91 °C) [169]. Wydajność reakcji wyniosła 63,9 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 400 MHz, ppm): 7,77 (m, 3H, aromat); 7,71 (s, 1H, aromat); 7,29 (s, 1H, aromat); 7,15 (m, 1H, aromat); 3,90 (kw, $J = 7,09$, 1H); 3,87 (s, 3H); 3,60 (s, 3H); 1,47 (d, $J = 7,14$, 3H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 100 MHz, ppm): 174,9; 157,7; 136,2; 133,8; 129,6; 128,9; 127,5; 126,7; 126,1; 119,3; 106,2; 55,7; 52,3; 44,8; 18,9.

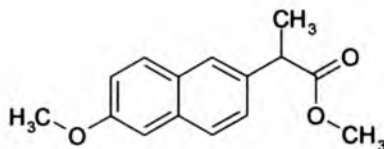


6.3.3.2. (RS)-ester metylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (9)

Do kolby okrągłodennej zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne o pojemności 50 ml zawierającej roztwór (RS)-kwasu alfa-metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (5 mmoli, 1 g) w metanolu (45 ml) dodano 8 kropli stężonego kwasu siarkowego. Mieszaninę reakcyjną mieszano 24 godziny pod refluxem, poczym rozcieńczono ją za pomocą dichlorometanu (ok. 10 ml), przemyto wodnym nasyconym roztworem wodorowęglanu potasu i suszono nad Na_2SO_4 . Odparowanie rozpuszczalnika pozwoliło otrzymać 0,87 g produktu o temperaturze topnienia $66,6\text{ }^\circ\text{C}$ (lit. t.t. = $65\text{ }^\circ\text{C}$) [170]. Wydajność reakcji wyniosła 80,2 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

¹H-NMR (d6-DMSO, 400 MHz, ppm): 7,77 (m, 3H, aromat); 7,71 (s, 1H, aromat); 7,29 (s, 1H, aromat); 7,15 (m, 1H, aromat); 3,90 (kw, $J = 7,09$, 1H); 3,87 (s, 3H); 3,60 (s, 3H); 1,47 (d, $J = 7,14$, 3H).

¹³C-NMR (d6-DMSO, 100 MHz, ppm): 174,9; 157,7; 136,2; 133,8; 129,6; 128,9; 127,5; 126,7; 126,1; 119,3; 106,2; 55,7; 52,3; 44,8; 18,9.

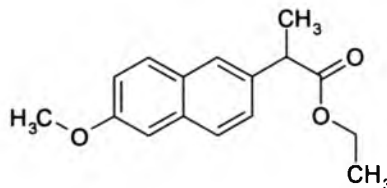


6.3.3.3. (RS)-ester etylowy kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (10)

Do kolby okrągłodennej zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne o pojemności 50 ml zawierającej roztwór (RS)-kwasu alfa-metylo-6-metoksy-2-naftalenowego (5 mmoli, 1 g) w etanolu (45 ml) dodano 8 kropli stężonego kwasu siarkowego. Mieszaninę reakcyjną mieszano 24 godziny pod refluxem, poczym rozcieńczono ją za pomocą dichlorometanu (ok. 10 ml), przemyto wodnym nasyconym roztworem wodorowęglanu potasu i suszono nad Na_2SO_4 . Odparowanie rozpuszczalnika pozwoliło otrzymać 0,98 g produktu o temperaturze topnienia $56,7\text{ }^\circ\text{C}$ (lit. t.t. = $54\text{ }^\circ\text{C}$) [171]. Wydajność reakcji wyniosła 84,9 % (brak literaturowej wydajności reakcji).

^1H -NMR (d6-DMSO, 400 MHz, ppm): 7,77 (m, 2H, aromat); 7,71 (s, 1H, aromat); 7,39 (dd, 1H, $J_1 = 1,70$, $J_2 = 8,51$, aromat); 7,29 (d, 1H, $J = 2,40$, aromat); 7,15 (dd, $J_1 = 2,52$, $J_2 = 8,94$, 1H, aromat); 4,05 (m, 2H); 3,88 (kw, $J = 7,10$; 1H); 3,86 (s, 3H); 1,48 (d, $J = 7,14$, 3H); 1,10 (tr, $J = 7,08$, 3H).

^{13}C -NMR (d6-DMSO, 100 MHz, ppm): 174,3; 157,7; 136,3; 133,8; 129,6; 128,9; 127,5; 126,7; 126,0; 119,2; 106,2; 60,7; 55,6; 44,9; 18,9; 14,4.



6.4. Chromatografia cienkowarstwowa TLC

6.4.1. Sprzęt wykorzystany do badań chromatograficznych

Woda użyta do sporządzenia roztworów wykorzystywanych do badań TLC była podwójnie destylowana i dejonizowana za pomocą aparatu Elix Advantage (model Millipore system, Molsheim, Francja). Eksperymenty chromatograficzne przeprowadzono odpowiednio z zastosowaniem płytek TLC o wymiarach 20 cm x 20 cm pokrytych 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄ (Merck, nr kat. 1.05729.0001), płytek TLC o wymiarach 10 cm x 20 cm pokrytych 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄ (Merck, nr kat. 1.05729.0001) oraz płytek aluminiowych o wymiarach 20 cm x 20 cm pokrytych 0,20 mm warstwą tlenku glinu 60 F₂₅₄ neutralnych, typu E (Merck, nr kat. 5550). Nanoszenie analitów wykonano za pomocą automatycznego aplikatora próbek do płytek chromatograficznych (model AS-30, Desaga, Heidelberg, Niemcy). W przypadku ręcznego nanoszenia testowanych związków użyto kalibrowanych kapilar do nanoszenia próbek stosowanych

w chromatografii cienkowarstwowej (Camag, Muttenz, Szwajcaria). Rozwijanie chromatografów prowadzono w komorach chromatograficznych wg Stahla (Camag, Muttenz, Szwajcaria). Analizę płytek chromatograficznych przeprowadzono za pomocą densytometru skaningowego (Desaga, Heidelberg, Niemcy, Model CD 60) wyposażonego w program ProQuant (Desaga) współpracującego z systemem Windows. Wszystkie densytogramy dwu i trójwymiarowe 2D i 3D badanych związków otrzymano za pomocą programu MatLab.

6.4.2. Odczynniki używane do badań chromatograficznych

Merck: kwas (\pm)-2-fenylpropionowy, L-arginina

Acros Organic: DL-arginina, kwas p-aminobenzoowy

Sigma Aldrich: (S)-naproksen, (R)-naproksen, Ru(acac)₃

Chempur: acetonitryl, heksan, metanol, etanol, 99 % kwas octowy, 2-propanol, octan etylu, chloroform

Wszystkie stosowane do syntez odczynniki i rozpuszczalniki oczyszczano według standardowych procedur dostępnych w literaturze [153,162,163].

6.4.3. Kwas fenylpropionowy

W eksperymencie użyto roztwór kwasu (\pm)-2-fenylpropionowego o stężeniu $1,83 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sporządzony w 70 % roztworze etanolu w wodzie oraz czystego nie rozcieńczonego kwasu. Woda użyta do sporządzenia roztworu była podwójnie destylowana i dejonizowana.

Do badań zastosowano płytki TLC o wymiarach 20 cm x 20 cm pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄. Przed użyciem płytki dokładnie oczyszczono poprzez wstępną procedurę TLC w ciekłej mieszaninie metanol-woda (9:1), a następnie suszono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Część płytek zaimpregnowano roztworem argininy w metanolu ($c = 3,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$), poprzez zanurzenie ich na 2 s w tym roztworze, pozostałe pozostawiono niezaimpregnowane. Tak przygotowane płytki gotowe były do użycia w eksperymencie.

Roztwór kwasu w 70 % etanolu (1 μl) наносzony był na płytki na wysokości 1,5 cm nad dolną krawędzią za pomocą autosamplera. Płytki rozwijano w temperaturze $22 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na dystansie 15 cm z użyciem następujących faz ruchomych:

- dla płytek niezaimpregnowanych: ACN + MeOH + H₂O, w stosunku objętościowym 5:1:0,75
- dla płytek zaimpregnowanych roztworami argininy: ACN + MeOH + H₂O, w stosunku objętościowym 5:1:0,75, z dodatkiem 0,5 % objętościowych lodowatego kwasu octowego, w celu utrzymania pH<5

Pięć próbek kwasu, w równej odległości 1,5 cm od siebie, naniesiono na jedną płytkę, a następnie chromatogram został rozwinięty w trybie jednowymiarowym 1D. Po rozwinięciu chromatogramu płytki suszono przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, a następnie analizowano za pomocą densytometru skaningowego. Utworzono densytogramy dwu i trójwymiarowe 2D i 3D.

Czysty, nierozcieńczony kwas (\pm)-2-fenylpropionowy był наносzony na płytki TLC poprzez delikatne dotknięcie płytki końcówką kapilary zanurzonej w badanej próbce, dalsza procedura chromatograficzna przeprowadzona została w identyczny sposób jak w przypadku roztworu analizowanego kwasu w 70 % etanolu.

Płytki TLC skanowane były w densytometrze przy długości fali 210 nm. Profile stężeniowe przeskanowanych linii kwasu rejestrowano w świetle UV emitowanym przez lampę rtęciową. Maksima profili stężeniowych zostały wykorzystane do wyznaczenia poszczególnych wartości R_f .

Dla porównania, zachowanie kwasu (\pm)-2-fenylopropionowego zbadano także w układzie chromatograficznym zawierającym komercyjne płytki aluminiowe (20 cm \times 20 cm), pokryte 0,20 mm warstwą tlenku glinu 60 F₂₅₄ neutralne, typ E. Reszta procedur chromatograficznych była taka sama jak dla płytek pokrytych żel krzemionkowym, skład zastosowanej fazy ruchomej był następujący: ACN + MeOH + H₂O, w stosunku objętościowym 5:1:1,25.

6.4.4. Naproksen

W eksperymencie użyto odpowiednio roztworów (S)- oraz (R)-naproksenu o stężeniu $2,20 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ sporządzonych w 70 % roztworze etanolu w wodzie. Woda użyta do sporządzenia roztworu była podwójnie destylowana i dejonizowana.

Do badań zastosowano płytki TLC o wymiarach 20 cm x 20 cm pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄. Przed użyciem płytki dokładnie oczyszczono poprzez wstępną procedurę TLC w ciekłej mieszaninie metanol-woda (9:1), a następnie suszono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Część płytek zaimpregnowano roztworem L-argininy oraz DL-argininy w metanolu ($c = 3,00 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹), poprzez zanurzenie ich na 2 s w roztworze aminokwasu. Impregnację kolejnych płytek prowadzono co 24 h stopniowo starzejącymi się roztworami impregnatów. Pozostałe płytki pozostawiono niezaimpregnowane. Tak przygotowane płytki gotowe były do użycia w eksperymencie.

Roztwór badanego profenu w 70 % etanolu (1 μ l) наносzony był na płytki na wysokości 1,5 cm nad dolną krawędzią za pomocą autosamplera. Płytki rozwijano w temperaturze $22 \pm 1^\circ\text{C}$ na dystansie 15 cm z użyciem następujących faz ruchomych:

- dla płytek niezaimpregnowanych: EtOH
- dla płytek zaimpregnowanych roztworami argininy: EtOH z dodatkiem 0,5 % objętościowych lodowatego kwasu octowego

Dziewięć próbek naproksenu, w równej odległości 2 cm od siebie, naniesiono na jedną płytkę, a następnie chromatogram został rozwinięty w trybie jednowymiarowym 1D. Po rozwinięciu chromatogramu płytki suszono przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, a następnie analizowano za pomocą densytometru skaningowego. Utworzono densytogramy dwu i trójwymiarowe 2D i 3D.

Płytki TLC skanowane były w densytmetrze przy długości fali 210 nm. Profile stężeniowe przeskanowanych linii naproksenu rejestrowano w świetle UV emitowanym przez lampę rtęciową. Maksima profili stężeniowych zostały wykorzystane do wyznaczenia poszczególnych wartości R_f .

6.4.5. Modelowe związki ferro

Do badań TLC wykorzystano odpowiednio związki: (S)-4-nonanoloksy-4'-(2-metylobutylocarbonylo)bifenyl (ferroA), (S)-4-[4-(1-metyloheptylocarbonylo)fenylo]-4'-[6-(cyjanoetanoloxy)pentyloksi]bifenilo-4-karboksylan (ferroC₅), (S)-4-[4-(1-metyloheptylocarbonylo)fenylo]-4'-[6-(cyjanoetanoloxy)heksyloksi]bifenilo-4-karboksylan (ferroC) oraz (S)-4-(3-metylo-2-chloropentanoiloksy)-4'-heptyloksybifenyl (ferroD).

W eksperymencie użyto odpowiednio roztworów wszystkich związków o stężeniu $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sporządzonych w chloroformie.

Do badań zastosowano płytki TLC o wymiarach 10 cm x 20 cm pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄. Przed użyciem płytki dokładnie oczyszczono poprzez wstępną procedurę TLC w ciekłej mieszaninie metanol-woda (9:1), a następnie suszono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Tak przygotowane płytki gotowe były do użycia w eksperymencie.

Roztwory badanych związków (2 µl) nanoszone były na płytki chromatograficzne na wysokości 1,5 cm nad dolną krawędzią za pomocą autosamplera. Płytki rozwijano w temperaturze $22 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na dystansie 15 cm z użyciem następujących faz ruchomych:

- związek ferroA: heksan + 2-propanol, w stosunku objętościowym 8:2
- związek ferroC₅: heksan + metanol, w stosunku objętościowym 8:2
- związek ferroC: heksan + 2-propanol, w stosunku objętościowym 8:2
- związek ferroD: heksan + 2-propanol, w stosunku objętościowym 8:2

Każdy ze związków naniesiono w równej odległości 2,5 cm od siebie, każdy na osobną płytkę, a następnie chromatogramy zostały rozwinięte w trybie jednowymiarowym 1D. Po rozwinięciu chromatogramów płytki suszono przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, a następnie analizowano za pomocą densytometru skaningowego. Utworzono densytogramy dwu i trójwymiarowe 2D i 3D.

W przypadku eksperymentu kontrolnego na jedną płytkę chromatograficzną naniesiono próbkę badanego związku ferroA oraz ferroD (2 μ l) wraz z próbką związku niewykazującego odchyień (kwas p-aminobenzoowy) w odległościach równych 2 cm.

Płytki TLC skanowane były w densytmetrze przy długościach fali 280 nm, 290 nm, 310 nm, 260 nm odpowiednio dla związków ferroA, ferroC₅, ferroC oraz ferroD. Profile stężeniowe przeskanowanych linii analitów rejestrowano w świetle UV emitowanym przez lampę rtęciową. Maksima profili stężeniowych zostały wykorzystane do wyznaczenia poszczególnych wartości R_f .

6.4.6. Kwas α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowy

Do badań użyto roztworu kwasu α -metylo-6-dodecyloksy-2-naftalenowego o stężeniu $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sporządzonego w metanolu.

W eksperymencie zastosowano płytki TLC o wymiarach 10 cm x 20 cm pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄. Przed użyciem płytki dokładnie oczyszczono poprzez wstępną procedurę TLC w ciekłej mieszaninie metanol-woda (9:1), a następnie suszono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Tak przygotowane płytki gotowe były do użycia w eksperymencie.

Roztwory badanego związku (3 μ l) nanoszone były na płytki chromatograficzne na wysokości 1,5 cm nad dolną krawędzią za pomocą autosamplera. Płytki rozwijano

w temperaturze 22 ± 1 °C na dystansie 15 cm z użyciem fazy ruchomej: acetonitryl + heksan, w stosunku objętościowym 5:2.

Próbki badanego związku naniesiono na płytki chromatograficzne w równej odległości 2 cm od siebie, a następnie chromatogramy został rozwinięte w trybie jednowymiarowym 1D. Po rozwinięciu chromatogramu płytki suszono przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, a następnie analizowano za pomocą densytometru skaningowego. Utworzono densytogramy dwu i trójwymiarowe 2D i 3D.

Płytki TLC skanowane były w densytmetrze przy długości fali 254 nm. Profile stężeniowe przeskanowanych linii analitu rejestrowano w świetle UV emitowanym przez lampę rtęciową. Maksima profili stężeniowych zostały wykorzystane do wyznaczenia wartości R_f .

6.4.7. Ru(acac)₃- (2,4-pentanodioniano)ruten (III)

W eksperymencie użyto roztworu kompleksu rutenu o stężeniu $1,00 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ sporządzonego w etanolu.

Do badań zastosowano płytki TLC o wymiarach 10 cm x 20 cm pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄. Przed użyciem płytki dokładnie oczyszczono poprzez wstępną procedurę TLC w ciekłej mieszaninie metanol-woda (9:1), a następnie suszono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Tak przygotowane płytki gotowe były do użycia w eksperymencie.

Roztwór badanego związku (1 µl) наносzony był na płytki chromatograficzne na wysokości 1,5 cm nad dolną krawędzią za pomocą autosamplera. Płytki rozwijano w temperaturze 22 ± 1 °C na dystansie 15 cm z użyciem octanu etylu jako fazy ruchomej.

Związek naniesiono w równych odległościach 1,5 cm od siebie, a następnie chromatogramy zostały rozwinięte w trybie jednowymiarowym 1D. Po rozwinięciu chromatogramów płytki suszono przez 3 godziny w temperaturze pokojowej i analizowano za pomocą densytometru skaningowego. Utworzono densytogramy dwu i trójwymiarowe 2D i 3D.

Płytki TLC skanowane były w densytometrze przy długości fali 280 nm. Profile stężeniowe przeskanowanych linii analitów rejestrowano w świetle UV emitowanym przez lampę rtęciową. Maksima profili stężeniowych zostały wykorzystane do wyznaczenia poszczególnych wartości R_f .

6.4.8. Kwas p-aminobenzoowy

W eksperymencie zastosowano roztwór kwasu p-aminobenzoowego o stężeniu równym $c = 1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sporządzonego w etanolu.

Do badań zastosowano płytki TLC o wymiarach 10 cm x 20 cm pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄. Przed użyciem płytki dokładnie oczyszczono poprzez wstępną procedurę TLC w ciekłej mieszaninie metanol-woda (9:1), a następnie suszono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Tak przygotowane płytki gotowe były do użycia w eksperymencie.

Roztwór kwasu (2 µl) nanoszony był na płytki na wysokości 1,5 cm nad dolną krawędzią za pomocą autosamplera. Płytki rozwijano w temperaturze $22 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na dystansie 15 cm. Jako fazę ruchomą użyto mieszaniny heksan + 2-propanol w stosunku objętościowym 8:2.

Próbki kwasu, w równej odległości 2 cm od siebie, naniesiono na jedną płytkę, a następnie chromatogram został rozwinięty w trybie jednowymiarowym 1D. Po rozwinięciu chromatogramu płytki suszono przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, a następnie analizowano za pomocą densytometru skaningowego. Utworzono densytogramy dwuwymiarowe 2D.

Płytki TLC skanowane były w densytometrze przy długości fali 290 nm. Profile stężeniowe przeskanowanych linii kwasu rejestrowano w świetle UV emitowanym przez lampę rtęciową. Maksima profili stężeniowych zostały wykorzystane do wyznaczenia poszczególnych wartości R_f .

6.5. Chromatografia cienkowarstwowa TLC- efekt temperaturowy

Do badań temperaturowych użyto roztworów kwasu (\pm)-2-fenylpropionowy, (S)-naproksenu, kompleksu $\text{Ru}(\text{acac})_3$ oraz związków ferroA, ferroC₅, ferroC, ferroD a także kwasu p-aminobezoesowego.

W eksperymencie wykorzystano roztwory poszczególnych związków o stężeniu równym $1.00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, dla związku ferroC₅ zastosowano niższe stężenie ($0,2 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$) w celu osiągnięcia optymalnych warunków eksperymentalnych.

Do badań zastosowano płytki TLC o wymiarach 20 cm x 20 cm pokryte 0,25 mm warstwą żelu krzemionkowego 60 F₂₅₄. Przed użyciem płytki dokładnie oczyszczono poprzez wstępną procedurę TLC w ciekłej mieszaninie metanol-woda (9:1), a następnie suszono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Część płytek zaimpregnowano roztworem argininy w metanolu ($c = 3 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$), poprzez zanurzenie ich na 2 s w tym roztworze, pozostałe pozostawiono niezaimpregnowane. Tak przygotowane płytki gotowe były do użycia w eksperymencie.

Roztwory związków testowych (2 μl) nanoszone były w równych odległościach 2,5 cm od siebie na płytki na wysokości 1,5 cm nad dolną krawędź za pomocą autosamplera. Płytki rozwijano w temperaturze $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ oraz $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ na dystansie 15 cm z użyciem odpowiednich faz ruchomych. Dla płytek zaimpregnowanych roztworami argininy faza ruchoma zawierała dodatek 0,5 % objętościowych lodowatego kwasu octowego, w celu utrzymania $\text{pH} < 5$.

Chromatogramy zostały rozwinięte w trybie jednowymiarowym 1D. Po rozwinięciu chromatogramów płytki suszono przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, a następnie analizowano za pomocą densytometru skaningowego. Utworzono densytogramy dwuwymiarowe 2D.

Płytki TLC skanowane były w densytmetrze przy długościach fali odpowiednich dla danego związku. Profile stężeniowe przeskanowanych linii analitów rejestrowano w świetle UV emitowanym przez lampę rtęciową. Maksima profili stężeniowych zostały wykorzystane do wyznaczenia poszczególnych wartości R_f .

6.6. Polarymetria

6.6.1. Sprzęt wykorzystany do badań polarymetrycznych

Do badań polarymetrycznych wykorzystano pompę Maxi Star Knauer dla HPLC (Knauer, Berlin, Niemcy), bezpośrednio związaną z polarymetrem 341 Perkin-Elmer (Waltham, MA, USA) wyposażonym w celkę pomiarową Perkin-Elmer HPLC (1 dm długości) oraz z systemu Windows z oprogramowaniem PolWinLab (BioLight Luminescence Systems, Londyn, Wielka Brytania) koniecznym do pozyskiwania i przetwarzania danych.

6.6.2. Odczynniki używane do badań polarymetrycznych

Sigma Aldrich: (R)-naproksen

Darmstadt: dichlorometan, metanol (rozpuszczalniki czyste do HPLC)

6.6.3. R-naproksen

W eksperymencie statycznym, bez zmiany siły przepływu, użyto roztworów naproksenu o stężeniach odpowiednio równych 0,42, 0,50, 1,00, 1,50 oraz 3,00 g/100 ml dla roztworów sporządzonych w dichlorometanie. Dla roztworów metanolowych stężenia wynosiły odpowiednio 0,10, 0,30, 0,45, 0,60 oraz 0,80 g/100 ml.

Dla pomiarów prowadzonych ze zmiennym przepływem użyto natężenia przepływu 0,5 ml/min i 2,0 ml/min dla roztworów w DCM oraz 0,5 ml/min i 5,0 ml/min dla pomiarów roztworów w 70 % metanolu.

6.7. Preferencyjna krystalizacja

6.7.1. Odczynniki używane w procesie

Polskie Odczynniki Chemiczne S.A. Gliwice: Na, NaOH

Chempur: metanol, chloroform

Sigma Aldrich: (R)-ester etylowy naproksenu

6.7.2. Sprzęt stosowany w procesie

Do kontroli czystości enancjomerycznej produktów otrzymanych w procesie preferencyjnej krystalizacji wykorzystano polarymetr Polamat A firmy Carl Zeiss (Jena, Niemcy) wyposażony w celkę pomiarową o długości 0,5 dm. W doświadczeniu wykorzystano łąźnię ultradźwiękową.

6.7.3. Deracemizacja (RS)-estru metylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego [157]

W standardowej probówce o pojemności 10 ml zawierającej 5,8 g pierścieni szklanych umieszczono 0,5 g (RS)-estru metylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego, 0,002 g (S)-estru metylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego oraz NaOMe/MeOH (4,2 g przygotowanego poprzez rozpuszczenie 3,1 g Na w 50 ml w osuszonym metanolu). Probówkę zamknięto septą i umieszczono w łąźni ultradźwiękowej (bądź mieszano na mieszadle magnetycznym) na okres 5-14 dni. Po upływie określonego czasu reakcji (odpowiednio po 5 oraz 14 dniach), z otrzymanej zawiesiny pobrano strzykawką próbkę 0,01 g do badań polarymetrycznych celem określenia czystości optycznej produktu. Skręcalność właściwa próbki nie zmieniała się w czasie prowadzenia reakcji wykazując wartość 0 °.

Zmierzona skręcalność właściwa (S)-estru metylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego ($c = 1$ g/ 100 ml w CHCl_3) wyniosła 76 ° (lit. skręcalność właściwa = 74 ° [172]).

6.7.4. Deracemizacja (RS)-estru etylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego [157]

Zastosowano procedurę analogiczną do opisanej w punkcie 6.8.1. stosując odpowiednio estry etylowe naproksenu. Skręcalność właściwa próbki nie zmieniała się w czasie prowadzenia reakcji wykazując wartość 0° .

Zmierzona skręcalność właściwa (S)-estru etylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego ($c = 1$ g/ 100 ml w CHCl_3) wyniosła 38° (lit. skręcalność właściwa = $42,1^\circ$ [173]).

6.7.5. Deracemizacja (RS)-estru etylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego połączona z transestryfikacją [157]

W standardowej probówce o pojemności 10 ml zawierającej 7,1 g pierścieni szklanych umieszczono 0,5 g (RS)-estru etylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego, 0,04 g (S)-estru metylowego kwasu α -metylo-6-metoksy-2-naftalenowego oraz NaOMe/MeOH (5,3 g przygotowanego poprzez rozpuszczenie 3,1 g Na w 50 ml osuszonym metanolu). Probówkę zamknięto septą i umieszczono w łaźni ultradźwiękowej (bądź mieszano na mieszadle magnetycznym) na okres 5-14 dni. Po upływie określonego czasu reakcji (odpowiednio po 5 oraz 14 dniach), z otrzymanej zawiesiny pobrano strzykawką próbkę 0,01 g do badań polarymetrycznych celem określenia czystości optycznej produktu. Skręcalność właściwa próbki nie zmieniała się w czasie prowadzenia reakcji wykazując stałą wartość $1,1^\circ$.

7. Literatura

- [1]. G. S. Kottas, L. I. Clarke, D. Horinek, J. Michl, *Artificial Molecular Rotors*, Chem. Rev., 2005, 105, 1281-1376
- [2]. www.organichem.wordpress.com
- [3]. www.pl.wikipedia.org
- [4]. G. Pallas, Stereochemia związków organicznych, PWN, Wyd. 2, 1965
- [5]. I. Z. Siemion, Biostereochemia, PWN, Warszawa, 1985
- [6]. S. S. Adams, P. Bresloff, G. Mason, *Pharmacological differences between the optical isomers of ibuprofen: evidence of metabolic inversion of the (-) isomer*, J. Pharm. Pharmacol., 1976, 28, 256-257
- [7]. W. H. Brooks, W. C. Guida, K. G. Daniel, *The Significance of Chirality in Drug Design and Development*, Curr. Top. Med. Chem., 2011, 11, 7, 760-770
- [8]. A. Shoji, M. Kuwahara, H. Ozaki, H. Sawai, *Modified DNA Aptamer That Binds the (R)-Isomer of a Thalidomide Derivative with High Enantioselectivity*, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 5, 1456-1464
- [9]. N. M. Davies, *Methods of analysis of chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs*, J. Chromatogr. B, 691, 229, 1997
- [10]. <http://goldpharma.com/deal/lang/POLISH>
- [11]. R. F. Nelson, An introduction to behavioral endocrinology (3rd ed.), Sunderland, Mass: Sinauer Associates, 2005
- [12]. J. R. Vane, Y. S. Bakhle, R. M. Botting, *Cyclooxygenases 1 and 2*, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1998, 38, 97-120
- [13]. W. L. Xie, J. G. Chipman, D. L. Robertson, R. L. Erikson, D. L. Simmons, *Cyclooxygenase-1, not cyclooxygenase-2, is responsible for physiological production of prostacyclin in the cardiovascular system*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, 88, 7, 2692-2696
- [14]. N. V. Chandrasekharan, H. Dai, K. L. Roos, N. K. Evanson, J. Tomsik, T. S. Elton, D. L. Simmons, *COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, 99, 13926-13931
- [15]. B. Kis, A. Snipes, F. Bari, D. W. Busija, *Regional distribution of cyclooxygenase-3 mRNA in the rat central nervous system*, Brain Res. Mol. Brain Res., 2004, 126, 78-80

- [16]. R. M. Botting, S. S. Ayoub, *COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen*, Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, 2005, 72, 85-87
- [17]. J. R. Vane, *Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-like Drugs*, Nature, 1971, 231, 232-235
- [18]. T. M. MacDonald, *Epidemiology and pharmacoeconomic implications of non-steroidal anti-inflammatory drug-associated gastrointestinal toxicity*, 2000, 39, 13-20
- [19]. P. M. Brooks, R. O. Day, *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: differences and similarities*, N. Engl. J. Med., 1991, 324, 1716-1725
- [20]. R. G. Kurumbali, A. M. Stevens, J. K. Gierse, J. J. McDonald, R. A. Stegeman, J. Y. Pak, D. Gildehaus, J. M. Miyashiro, T. D. Penning, K. Seibert, P. C. Isakson, W. C. Stallings, *Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by inflammatory agents*, Nature, 1996, 384, 644-648
- [21]. D. A. Williams, T. L. Lemke, Foye's Principles of Medicinal Chemistry, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001
- [22]. L. Stryer, Biochemia, PWN, Warszawa, 2003
- [23]. R. Mullangi, M. Yao, N. R. Srinivas, *Resolution of enantiomers of ketoprofen by HPLC: a review*, Biomed. Chromatogr., 17, 2003, 423-434
- [24]. T. S. Tracy, S. D. Hall, *Metabolic inversion of (R)-ibuprofen. Epimerization and hydrolysis of ibuprofenyl-coenzyme A*, Drug. Metab. Disp., 1992, 20, 2, 322-327
- [25]. C. Reichel, R. Brugger, H. Bang, G. Geisslinger, K. Brune, *Molecular Cloning and Expression of a 2-Arylpropionyl-Coenzyme A Epimerase: A Key Enzyme in the Inversion Metabolism of Ibuprofen*, Mol. Pharmacol. 1997, 51, 4, 576-582
- [26]. S. Müller, J. M. Mayer, J. C. Etter, B. Testa, *Metabolic chiral inversion of ibuprofen in isolated rat hepatocytes*, Chirality, 1990, 2, 2, 74-78
- [27]. M. N. Davies, Chiral Inversion, Chirality in Drug Design and Development, I. K. Reddy, Taylor & Francis, e-Library, 2005
- [28]. J. M. Somagoni, C. M. Eaga, R. Sunil, M. Sarangapani, R. Y. Madhsudan, *Chiral interactions and chiral inversions- new challenges to chiral scientists*, Pharmacie Globale (IJCP), 2011, 2, 3, 1-9
- [29]. A. M. Evans, *Enantioselective Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Chiral Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs*, Eur. J. Clin. Pharmacol., 1992, 42, 237-256
- [30]. K. P. Stock, G. Geisslinger, D. Loew, W. S. Beck, G. L. Bach, K. Brune, *S-ibuprofen versus ibuprofen-racemate. A randomized double-blind study in patients with rheumatoid arthritis.*, Rheumatol Int., 1991, 11, 4-5, 199-202

- [31]. G. Geisslinger, O. Schuster, K. P. Stock, D. Loew, G. L. Bach, K. Brune, *Pharmacokinetics of S(+)- and R(-)-ibuprofen in volunteers and first clinical experience of S(+)-ibuprofen in rheumatoid arthritis*, Eur. J. Clin. Pharmacol., 1990, 38, 5, 493-497
- [32]. J. M. Brown, *Enantiomerically Pure Drugs*, Science, 1992, 257, 1847-1848
- [33]. L. Pasteur, C. R. Hebd., *Memoir on the relationship which can exist between crystalline form and chemical composition, and on the cause of rotary polarization*, Seanc. Acad. Sci., Paris, 1848, 26, 535-538
- [34]. E. Francotte, W. Lindner, R. Mannhold, H. Kubinyi, G. Folker, *Chirality in Drug Research*, Wiley-VCH, 2007
- [35]. L. Synoradzki, H. Hajmowicz, J. Wisialski, A. Mizerski, T. Rowicki, *Calcium Pantothenate. Part 3.(1) Process for the Biologically Active Enantiomer of the Same via Selective Crystallization and Racemization*, Org. Process Res. Dev., 2008, 12, 6, 1238-1244
- [36]. I. Weissbuch, M. Lahav, *Crystalline Architectures as Templates of Relevance to the Origins of Homochirality*, Chem. Rev., 2011, 111, 3236-3267
- [37]. G. Coquerel, *Preferential crystallization*, Top. Curr. Chem., 2007, 269, 1-51
- [38]. M. W. van der Meijden, M. Leeman, E. Gelens, W. L. Noorduyn, H. Meekes, W. J. P. van Enkevort, B. Kaptein, E. Vlieg, R. M. Kellogg, *Attrition-Enhanced Deracemization in the Synthesis of Clopidogrel- A Practical Application of A New Discovery*, Org. Process Res. Dev., 2009, 13, 6, 1195-1198
- [39]. J. Jacques, A. Collet, S. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Krieger Pub. Co., Malabar, Florida, reprint, 1994, 10-20
- [40]. E. Havinga, *Spontaneous formation of optically active substances*, Biochim. Biophys. Acta, 1954, 13, 171-174
- [41]. D. K. Kondepudi, R. J. Kaufman, N. Singh, *Chiral symmetry breaking in sodium chlorate crystallization*, Science, 1990, 250, 975-977
- [42]. J. M. McBride, L. R. Carter, *Spontaneous resolution by stirred crystallisation*, Angew. Chem. Int. Ed., 1991, 30, 293-295
- [43]. W. L. Noorduyn, B. Kaptein, H. Meekes, W. J. P. van Enkevort, R. M. Kellogg, E. Vlieg, *Fast attrition-enhanced deracemization of naproxen by a gradual in situ feed*, Angew. Chem. Int. Ed., 2009, 48, 25, 4581-4583
- [44]. K. Arai, Y. Ohara, Y. Takakuwa, T. Iizumi, *Process for preparing an optical active ester of naphthylpropionic acid*, U.S. Pat. Appl. 4417070, 1983

- [45]. W. L. Noorduin, E. Vlieg, R. M. Kellogg, B. Kaptein, *From Ostwald Ripening to Single Chirality*, Angew. Chem. Int. Ed., 2009, 48, 9600-9607
- [46]. N. Tanaka, H. Kitano, N. Ise, *Raman spectroscopic study of hydrogen bonding in aqueous carboxylic acid solutions*, J. Phys. Chem., 1990, 94, 6290-6292
- [47]. H. O. Sorensen, S. Larsen, *Hydrogen bonding in enantiomeric versus racemic monocarboxylic acids; a case study of 2-phenoxypropionic acid*, Acta Cryst., Section B Structural Science, 2003, 59, 132-140
- [48]. J. Polański, M. Sajewicz, M. Knaś, A. Żywociński, M. Weloe, T. Kowalska, *Chiral rotors and an evidence of their action in planar chromatography*, Monographic supplement series: Chiral Technologies- chimica oggi/Chemistry Today, 2012, 30, 5, 22-25
- [49]. S. Brydges, L. E. Harrington, M. J. McGlinchey, *Sterically hindered organometallics: multi-n-rotor (n=5, 6 and 7) molecular propellers and the search for correlated rotations*, Coord. Chem. Rev., 2002, 233-234, 75-105
- [50]. S. Ogi, T. Ikeda, R. Wakabayashi, S. Shinkai, M. Takeuchi, *Bevel Gear-shaped Rotor Bearing a Double-decker Porphyrin Complex*, Chem. Eur. J., 2010, 16, 8285-8290
- [51]. www.emerson-ept.com
- [52]. C. Y. Kao, Y. T. Hsu, H. F. Lu, I. Chao, S. L. Huang, Y. C. Lin, W. T. Sun, J. S. Yang, *Toward a Four-Toothed Molecular Bevel Gear with C₂-Symmetrical Rotors*, J. Org. Chem., 2011, 76, 14, 5782-5792
- [53]. D. K. Frantz, A. Linden, K. K. Baldrige, J. S. Siegel, *Molecular spur gears comprising triptycene rotators and bibenzimidazole-based stators*, J. Am. Chem. Soc., 2012, 134, 1528-1535
- [54]. R. E. Bulo, F. Allaart, A. W. Ehlers, F. J. J. De Kanter, M. Schakel, M. Lutz, A. L. Spek, K. Lammertsma, *Circumambulatory rearrangement with characteristics of a 2: 1 covalent molecular bevel gear*, J. Am. Chem. Soc., 2006, 128, 37, 12169-12173
- [55]. M. Xue, S. Kabehie, A. Z. Stieg, E. Tkatchouk, D. Benitez, W. A. Gddard, I. Zink, K. L. Wang, *A molecular-rotor device for nonvolatile high-density memory applications*, IEEE Electron Device Letters, 2010, 31, 9, 1047-1049
- [56]. S. X. Du, Y. L. Wang, Q. Liu, H. G. Zhang, H. M. Guo, H. J. Gao, *Understanding formation of molecular rotor array on Au (111) surface*, Front. Phys.China, 2010, 5, 4, 380-386

- [57]. A. D. Jeweel, H .L. Tierney, A .E. Baber, E. V. Iski, M. M. Laha, E. C. H. Sykes, *Time-resolved studies of individual molecular rotors*, J. Phys. Condens. Matter., 2010, 22, 1-11
- [58]. www.danspropshop.com
- [59]. www.pilotfriend.com
- [60]. M. Nakamura, M. Oki, *Restricted rotation involving the tetrahedral carbon. IX. Isolation of isomers due to restricted rotation about an sp^3 - sp^2 carbon bond*, Tetrahedron Lett., 1974, 15, 6, 505-508
- [61]. M. Nakamura, M. Oki, *Restricted rotation involving the tetrahedral carbon. XXXIII. Restricted rotation about a Csp^3 - Csp^2 bond in 10,10-disubstituted 9-(2,6-xylyl)-9,10-dihydroanthracene derivatives*, Bull. Chem. Soc. Jpn, 1980, 53, 10, 2977-2980
- [62]. M. Oki, *Recent Advances in Atropisomerism*, Top. Stereochem., 1983, 14, 1-81
- [63]. C. Wolf, *Dynamic Stereochemistry of Chiral Compounds. Principles and Applications*, RSC Publishing, Cambridge, UK , 2008
- [64]. C. Joachim, J. K. Gimzewski, *Single Molecular Rotor at the Nanoscale*, Molecular Machines and Motors, Structure and Bonding, 2001, 99, 1-18
- [65]. M. A. Haidekker, E. A. Theodorakis, *Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors*, J. Biol. Engineering, 2010, 4, 11, 1-14
- [66]. Z. Asfari, C. Naumann, G. Kaufmann, J. Vicens, *Synthesis of a Molecular Mill Designed from a Calix[4]-bis-crown*, Tetrahedron Lett., 1998, 39, 9007-9010
- [67]. Y. Kawaguchi, A. Harada, *A Cyclodextrin-Based Molecular Shuttle Containing Energetically Favored and Disfavored Portions in Its Dumbbell Component*, Org. Lett., 2000, 2, 10, 1353-1356
- [68]. J. Milch, E. C . H. Sykes, *Molecular Rotors and Motors:Recent Advances and Future Challenges*, J. Am. Chem. Soc. Nano, 2009, 3, 5, 1042-1048
- [69]. S. Fournier-Bidoz, A. C. Arsenault, I. Manners, G. A. Ozin, *Synthetic self-propelled nanorotors*, Chem. Commun., 2005, 94, 4, 441-443
- [70]. E. R. Kay, D. A. Leigh, F. Zerbetto, *Synthetic molecular motors and mechanical machines*, Angewandte Chemie International Edition, 2006, 46, 1-2, 72-191
- [71]. M. A. Haidekker, E. A. Theodorakis, *Molecular rotors-fluorescent biosensors for viscosity and flow*, Org. Biomol. Chem., 2007, 5, 11, 1669-1678
- [72]. R. D. Vale, *The molecular motor toolbox for intracellular transport*, Cell, 2003, 112, 4, 467-480

- [73]. T. R. Kelly, H. DeSilva, R. A. Silva, *Unidirectional rotary motion in a molecular systems*, *Nature*, 1999, 401, 150-152
- [74]. N. Koumura, R. W. Zijlstra, R. A. van Delden, N. Harada, B. I. Beringa, *Light-driven monodirectional molecular rotor*, *Nature*, 401, 1999, 152-155
- [75]. J. Sutharsaa, D. Lichlyter, N. E. Wright, M. Dakanali, M. A. Haidekker, E. A. Theodorakis, *Molecular rotors: synthesis and evaluation as viscosity sensors*, *Tetrahedron*, 2010, 66, 14, 2582-2588
- [76]. C. E. Godinez, G. Zepeda, M. A. Garcia-Garibay, *Molecular compasses and gyroscopes. II. Synthesis and characterization of molecular rotors with axially substituted bis [2-(9-triptycyl) ethynyl] arenes*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 4701-4707
- [77]. Z. Dominguez, T.-A. V. Khuong, H. Dang, C. N. Sanrame, J. E. Nunez, M. A. Garcia-Garibay, *Molecular compasses and gyroscopes with polar rotors: synthesis and characterization of crystalline forms*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 8827-8837
- [78]. M. A. Haidekker, T. Brady, K. Wen, C. Okada, H. Y. Stevens, J. M. Snell, J. A. Frangosaand, E. A. Theodorakis, *Phospholipid-Bound Molecular Rotors: Synthesis and Characterization*, *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 3627-3636
- [79]. X. Zheng, M. E. Mulcahy, D. Horinek, F. Galeotti, T. F. Magnera, J. Michl, *Dipolar and nonpolar altitudinal molecular rotors mounted on an Au (111) surface*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 4540-4542
- [80]. B. L. Feringa, *In Control of Motion: From Molecular Switches to Molecular Motors*, *Acc. Chem. Res.* 2001, 34, 504-513
- [81]. G. Vives, A. Carella, S. Sistach, J.-P. Launay, G. Rapenne, *Synthesis of triester-functionalized molecular motors incorporating bis-acetylide trans-platinum insulating fragments*, *New J. Chem.*, 2006, 30, 1429-1438
- [82]. H. C. Berg, *Molecular motors: Keeping up with the F1-ATPase*, *Nature*, 1998, 394, 324-325
- [83]. M. A. Geeves, *Stretching the lever-arm theory*, *Nature*, 2002, 415, 129-131
- [84]. R. D. Vale, R. A. Milligan, *The way things move: Looking under the hood of molecular motor proteins*, *Science*, 200, 288, 88-95
- [85]. D. J. Sharp, G. C. Rogers, J. M. Scholey, *Microtubule motors in mitosis*, *Nature* 2002, 407, 41-47
- [86]. A. Davies, *Synthetic molecular motors*, *Nature*, 1999, 401, 120-121
- [87]. A. S. Mikhailov, G. Ertl, *Nonequilibrium Structures in Condensed Systems*, *Science*, 1996, 272, 1596-1597

- [88]. P. Palffy-Muhoray, T. Kosa, E. Weinan, *Brownian motors in the photoalignment of liquid crystals*, Appl. Phys. A75, 2002, 293-300
- [89]. Y. Tabe, H. Yokoyama, *Two-dimensional dynamic patterns in illuminated Langmuir monolayers*, Langmuir, 1995, 11, 4609-4613
- [90]. Y. Tabe, H. Yokoyama, *Coherent collective precession of molecular rotors with chiral propellers*, Nature Materials, 2003, 2, 806-809
- [91]. A. M. Zhabotinski, A. N. Zaikin, *Concentration wave propagation in a two-dimensional liquid-phase self-oscillating system*, Nature, 1970, 225, 535-536
- [92]. M. Seul, D. Andelman, *Domain Shapes and Patterns: The Phenomenology of Modulated Phases*, Science, 1995, 267, 476-483
- [93]. T. Shibata, A. S. Mikhailov, *Nonequilibrium pattern formation in chiral Langmuir monolayers with transmembrane flows*, Europhys. Lett., 2006, 73, 3, 436-442
- [94]. S. Ramaswamy, J. Toner, J. Prost, *Nonequilibrium fluctuations, traveling waves, and instabilities in active membranes*, Phys. Rev. Lett., 2000, 84, 3494-3497
- [95]. H.-Y. Chen, *Internal states of active inclusions and the dynamics of an active membrane*, Phys. Rev. Lett., 2004, 92, 168101
- [96]. P. Lenz, J.-F. Joanny, F. Julicher, J. Prost, *Membranes with rotating motors*, Phys. Rev. Lett., 2003, 91, 108104
- [97]. V. M. Kaganer, H. Mohwald, P. Dutta, *Structure and phase transitions in Langmuir monolayers*, Rev. Mod. Phys., 1999, 71, 779-819
- [98]. R. Reigada, F. Sagues, A. S. Mikhailov, *Traveling waves and nonequilibrium stationary patterns in two-component reactive Langmuir monolayers*, Phys. Rev. Lett., 2002, 89, 038301
- [99]. R. Reigada, A. S. Mikhailov, F. Sagues, *Nonequilibrium orientational patterns in two-component Langmuir monolayers*, Phys. Rev. E, 2004, 69, 041103
- [100]. T. Okuzono, Y. Tabe, H. Yokoyama, *Generation, propagation, and switching of orientational waves in photoexcited liquid-crystalline monolayers*, Phys. Rev. E, 2004, 69, 050701
- [101]. M. K. Beyer, H. Clausen-Schaumann, *Mechanochemistry: the mechanical activation of covalent bonds*, Chem. Rev., 2005, 105, 8, 2921-2948
- [102]. N. Kikuchi, A. Gent, J. M. Yeomans, *Polymer collapse in the presence of hydrodynamic interactions*, Eur. Phys. J. E, 2002, 9, 63-66
- [103]. H. Tanaka, *Roles of hydrodynamic interactions in structure formation of soft matter: protein folding as an example*, J. Phys. Condens. Matter, 2005, 17, 31, S2795-S2803

- [104]. K. Kamata, T. Araki, H. Tanaka, *Hydrodynamic Selection of the Kinetic Pathway of a Polymer Coil-Globule Transition*, Phys. Rev. Lett., 2009, 102, 108303
- [105]. J. M. Ribo, J. Crusats, F. Sagues, J. M. Claret, R. Rubires, *Chiral sign induction by vortices during the formation of mesophases in stirred solutions*, Science, 2001, 292, 2063-2066
- [106]. R. Rubires, J.-A. Farmeria, J. M. Ribo, *Stirring Effects on the Spontaneous Formation of Chirality in the Homoassociation of Diprotonated meso-Tetraphenylsulfonato Porphyrins*, Chem.-Eur. J., 2001, 7, 436-446
- [107]. J. Crusats, J. Claret, I. Diez-Perez, Z. El-Hachemi, H. Garcia-Ortega, R. Rubires, F. Sagues, J. M. Ribo, *Chiral shape and enantioselective growth of colloidal particles of self-assembled meso-tetra (phenyl and 4-sulfonatophenyl) porphyrins*, Chem. Commun., 2003, 1588-1589
- [108]. T. Yamaguchi, T. Kimura, H. Matsuda, T. Aida, *A Molybdenum Crown Cluster Forms Discrete Inorganic-Organic Nanocomposites with Metalloporphyrins*, Angew. Chem., Int. Ed., 2004, 43, 6327-6331
- [109]. C. Escudero, J. Crusats, I. Diez-Perez, Z. El-Hachemi, J. M. Ribo, *Folding and Hydrodynamic Forces in J-Aggregates of 5-Phenyl-10,15,20-tris(4-sulfophenyl)porphyrin*, Angew. Chem., Int. Ed., 2006, 45, 8032-8035
- [110]. S. Wada, K. Fujiwara, H. Monjushiro, H. Watarai, *Optical chirality of protonated tetraphenylporphyrin J-aggregate formed at the liquid/liquid interface in a centrifugal liquid membrane cell*, J. Phys. Condens. Matter, 2007, 19, 375105
- [111]. Z. El-Hachemi, O. Arteaga, A. Canillas, J. Crusats, C. Escudero, R. Kuroda, T. Harada, M. Rosa, J. M. Ribo, *On the Mechano-Chiral Effect of Vortical Flows on the Dichroic Spectra of 5-Phenyl-10,15,20-tris (4-sulfonatophenyl) porphyrin J-Aggregates*, Chem.-Eur. J., 2008, 14, 21, 6438-6443
- [112]. O. Arteaga, C. Escudero, G. Oncins, Z. El-Hachemi, J. Llorens, A. Canillas, J. Crusats, J. M. Ribo, *Reversible Mechanical Induction of Optical Activity in Solutions of Soft-Matter Nanophases*, Chem. Asian J., 2009, 4, 11, 1687-1696
- [113]. L. Zhao, R. Ma, J. Li, Y. An, L. Shi, *J- and H-aggregates of 5,10,15,20-tetrakis-(4-sulfonatophenyl)-porphyrin and interconversion in PEG-b-P4VP micelles.*, Biomacromolecules, 2008, 9, 2601-2608
- [114]. A. Tsuda, M. A. Alam, T. Harada, T. Yamaguchi, N. Ishii, T. Aida, *Spectroscopic Visualization of Vortex Flows Using Dye-Containing Nanofibers*, Angew. Chem., Int. Ed., 2007, 46, 8198-8202

- [115]. M. Wollfs, S. J. George, Z. Tomovi, S. C. J. Meskers, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Macroscopic Origin of Circular Dichroism Effects by Alignment of Self-Assembled Fibers in Solution*, Angew. Chem., Int. Ed., 2007, 46, 8203-8205
- [116]. C. Papaseit, N. Pochon, J. Tabony, *Microtubule self-organization is gravity-dependent*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 97, 8364-8368
- [117]. W. Dzwolak, A. Lokszejn, A. Galinska-Rakoczy, R. Adachi, Y. Goto, L. Rupnicki, *Conformational Indeterminism in Protein Misfolding: Chiral Amplification on Amyloidogenic Pathway of Insulin*, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 24, 7517-7522
- [118]. Y. Pomeau, Phenomènes de transport pour des molécules optiquement actives: Phys. Lett., 1971, 34A, 143-144
- [119]. Y. Pomeau, Separation of chiral molecules, C. R. Physique, 2002, 3, 1269-1271
- [120]. A. Setaro, Opto-mechanical effects in nematic and cholesteric liquid crystals, Università degli Studi di Napoli Federico II, PhD Thesis, Napoli, 2006
- [121]. J. Crusats, Z. El-Hachemi, J. M. Ribo, *Hydrodynamic effects on chiral induction*, Chem. Soc. Rev., 2010, 39, 569-577
- [122]. M. Sajewicz, M. Matlengiewicz, M. Leda, M. Gontarska, D. Kronenbach, T. Kowalska, I. R. Epstein, *Spontaneous oscillatory in vitro chiral conversion of simple carboxylic acids and its possible mechanism*, J. Phys. Org. Chem., 2010, 23, 1066-1073
- [123]. K. Kaczmariski, M. Sajewicz, W. Prus, T. Kowalska, Analyte-analyte interactions, effect on TLC band formation, J. Cazes (ed.), Encyclopedia of Chromatography, Marcel Dekker, Inc., New York, 2004, 1-5
- [124]. K. Kaczmariski, M. Sajewicz, A. Pieniak, R. Piętka, T. Kowalska, *Comparison of Lateral Interactions with Monocarboxylic and α , ω -Dicarboxylic Acids*, J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol., 2004, 27, 13, 1967-1980
- [125]. M. Sajewicz, A. Pieniak, R. Piętka, K. Kaczmariski, T. Kowalska, *Densitometric comparison of the performance of the Stahl-type and sandwich-type planar chromatographic chambers*, J. Liq. Chromatogr. Relat. Tehnol., 2004, 27, 13, 2019-2030
- [126]. M. Sajewicz, R. Piętka, G. Drabik, E. Namysło, T. Kowalska, *On the stereochemically peculiar two-dimensional separation of 2-arylpropionic acids by chiral TLC*, J. Planar Chromatogr.- Modern TLC, 2006, 19, 273-277
- [127]. M. Sajewicz, H. E. Hauck, G. Drabik, E. Namysło, B. Głód, T. Kowalska, *Tracing possible structural asymmetry of silica gel used for precoating thin-layer chromatographic plates*, J. Planar Chromatogr. - Modern TLC, 2006, 19, 278-281

- [128]. M. Sajewicz, R. Piętka, T. Kowalska, *Chiral separation of S-(+)- and R-(-)-ibuprofen by thin-layer chromatography. An improved analytical procedure*, *J. Planar Chromatogr.- Modern TLC*, 2004, 17, 173-176
- [129]. M. Sajewicz, M. Gontarska, M. Wróbel, T. Kowalska, *Enantioseparation and oscillatory transenantiomerization of S,R-(+/-)-ketoprofen, as investigated by means of thin layer chromatography with densitometric detection*, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2007, 30, 2193-2208
- [130]. M. Sajewicz, M. Gontarska, A. Dąbrowa, T. Kowalska, *Use of video densitometry and scanning densitometry to study an impact of silica gel and L-arginine on the retention of ibuprofen and naproxen in TLC systems*, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2007, 30, 2369-2383
- [131]. M. Sajewicz, M. Gontarska, D. Kronenbach, Ł. Wojtal, G. Grygierczyk, T. Kowalska, *Study of the oscillatory in vitro transenantiomerization of the antimers of flurbiprofen and their enantioseparation by thin-layer chromatography (TLC)*, *Acta Chromatogr.*, 2007, 18, 226-237
- [132]. M. Sajewicz, T. Kowalska, *The role seemingly of amorphous silica gel layers in chiral separations by planar chromatography*, *Pak. J. Anal. Environ. Chem.*, 2007, 8, 1-2, 36-40
- [133]. M. Sajewicz, G. Grygierczyk, M. Gontarska, T. Kowalska, *Enantioseparation of S,R-(+/-)-ketoprofen on plain silica gel layers with achiral mobile phase*, *J. Liq. Chrom. Relat. Technol.*, 30, 2007, 2185-2192
- [134]. R. Bhushan, J. Martens, T. Kowalska, J. Sherma (Eds.), *Thin Layer Chromatography in Chiral Separations and Analysis*, Chromatographic Science Series, 98, CRC Press, Boca Raton, 2007, 323
- [135]. www.chemgapedia.de
- [136]. R. Bhushan, V. Parshad, *Resolution of (±)-ibuprofen using L- arginine-impregnated thin-layer chromatography*, *J. Chromatogr. A*, 1996, 721, 369-372
- [137]. M. Sajewicz, M. Gontarska, Ł. Wojtal, D. Kronenbach, M. Leda, I. R. Epstein, T. Kowalska, *Experimental and model investigation of the oscillatory transenantiomerization of L-α-phenylalanine*, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2008, 31, 1986-2005
- [138]. M. Sajewicz, R. Wrzałik, M. Gontarska, D. Kronenbach, M. Leda, I. R. Epstein, T. Kowalska, *In vitro chiral conversion, phase separation, and wave propagation in aged profen solutions*, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2009, 32, 1359-1372

- [139]. P. Milczarczyk-Piowarczyk, A. Zywockinski, K. Noworyta, R. Hołyst, *Collective rotations of ferroelectric liquid crystals at the air/water interface*, Langmuir, 2008, 24, 21, 12354-12363
- [140]. M. Sajewicz, T. Kowalska, *On the mechanisms of enantiomer separations by chiral thin-layer chromatography on silica gel, and implications when densitometric detection is used. A mini review*. Acta Chromatogr., 2010, 22, 499-513
- [141]. Wykorzystano elementy grafiki [wikipedia]
- [142]. D. C. Abbott, H. Egan, J. Thomson, *Some observations on the thin-layer chromatography of organo-chlorine pesticides*, J. Chromatogr., 1964, 16, 481-487
- [143]. E. Stahl, *Gradient and low-temperature thin-layer chromatography*, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1964, 3, 12, 784-791
- [144]. H. J. Issaq, M. M. Mangino, G. M. Singer, D. J. Wilbur, N. H. Risser, *Effect of temperature on the separation of conformational isomers of cyclic nitrosamines by thin-layer chromatography*, Anal. Chem., 1979, 51, 2157-2159
- [145]. L. K. Jones, *Development of a sol-gel-based thin-layer chromatography stationary phase for in-situ infrared analysis*, ProQuest, UMI Dissertation Publishing, 2011, 31-34
- [146]. W. M. Potapow, Stereochemia, PWN Warszawa, 1986
- [147]. British Pharmacopeia, Londyn, UK, 1998, 384
- [148]. U.S. Pharmacopeia, 21st rev., U.S. Pharmacopeial Convention Rockville, MD, 1985, 710
- [149]. G. Ceccarini, A. M. Maione, *Variations of optical rotation of naproxen: Polarimetric determination in the presence of nonchiral basic compounds*, J. Pharm. Sci., 1989, 78, 12, 1053-1054
- [150]. M. R. Goldsmith, N. Jayasuriya, D. N. Beratan, P. Wipf, *Optical Rotation of Noncovalent Aggregates*, J. Am. Chem. Soc., 2003, 125, 15696-15697
- [151]. R. Baciocchi, G. Zenoni, M. Valentini, M. Mazzotti, M. Morbidelli, *Measurement of the dimerization constants of enantiomers*, J. Phys. Chem. A, 2002, 106, 10461-10469
- [152]. S. Y. Wooley, G. Holzwarth, *Optical activity of flow-oriented deoxyribonucleic acid*, J. Am. Chem. Soc., 1971, 93, 16, 4066-4068
- [153]. A. I. Vogel, Preparatyka organiczna, Wyd.3, 2006, WNT, Warszawa
- [154]. K. D. Kopple, *Synthesis of cyclic peptides*, J. Pharm. Sci., 1972, 61, 9, 1345-1356
- [155]. Asahi Chem. Ind., Chem. Abstr., 1967, 66, 37954c

- [156]. A. L. Banker, J. J. Bicksler, J. W. Giberson, F. Kreft Anthony III, D. M. Kubrak, J. H. Musser, *Naphthalenepropionic acid derivatives as antiinflammatory/antiallergic agents*, US Patent No: 5.208.344
- [157]. B. Kaptein, E. Vlieg, L. Noorduyn, *Method for the synthesis of chiral alpha-aryl propionic acid derivatives*, US Patent No: US 2012/0029226 A1
- [158]. G. Coquerel, Topics in Current Chemistry, Novel Optical Resolution Technologies, Chapter 1, Preferential Crystallization, Ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2007
- [159]. A. D. Randolph, M. A. Larson, *Theory of particulate process: Analysis and techniques of continous crystallization*, Academic Press, New York, 1988
- [160]. D. Ramkrishna, *Population Balances: Theory and applications to particulate systems In engineering*, Academic Press, New York, 2000
- [161]. H. Lorenz, F. Capla, D. Polenske, M. P. Elsner, A. Seidel-Morgenstern, *Crystalization Based Separation of Enantiomers (Review)*, Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 2007, 42, 1, 5-16
- [162]. W. Armarego, D. Perrin, Purification of Laboratory Chemicals, 1996, Elsevier
- [163]. J. Wróbel, Preparatyka i elementy syntezy organicznej, 1983, PWN Warszawa
- [164]. V. A. Basiuk, T. Y. Gromovoy, A. A. Chuiko, V. A. Soloshonok, V. P. Kukhar, *A Novel Approach to the Synthesis of Symmetric Optically Active 2,5-Dioxopiperazines*, Synthesis, 1992, 5, 449-451
- [165]. A. Piutti, Gazzetta Chimica Italiana, 1888, 18, 471-478
- [166]. K. Burger, M. Rudolph, E. Windeisen, A. Worku, S. Fehn, *Hexafluoracetone als Schutzgruppen-und Aktivierungsreagenz in der Aminosäure-und Peptidchemie, 11. Mitt.: Ein neuer präparativ einfacher Zugang zu 2,5-Dioxopiperazinen und 2,5-Dioxomorpholinen*, Monatshefte für Chemie, 1993, 124, 4, 453-463
- [167]. D. L. Severance, A. J. Borchardt, E. M. M. Gardiner, M. Kahraman, *Inhibitors of P38 kinase and methods of treating inflammatory disorders*, WIPO Patent Application WO/2007/015866
- [168]. J. Lambert, T. A. Muir, Practical chemistry, 3rd. Ed. Heineman, Londyn
- [169]. O. Munoz-Muniz, E. Jurasiti, *Enantioselective protonation of prochiral enolates in the asymmetric synthesis of (S)-naproxen*, Tetrahedron Lett., 44, 10, 2003, 2023-2026
- [170]. M. Noji, H. Sunahara, T. Haruka, M. Ken-Ichi, A. Komasa, K. Ishii, *A Novel Synthetic Route to 2-Arylalkanoic Acids by a Ruthenium-Catalyzed Chemoselective Oxidation of Furan Rings*, Synthesis, 2008, 23, 3835-3845
- [171]. Y. Mitsubishi, DE Patent 2646792, Chem. Abstr., 1977, 87, 67848

- [172]. H. Kotsuki, H. Hayakawa, H. Tateishi, M. Wakao, M. Shiro, *Synthesis of novel chiral oligopyridine derivative ligands for the enantioselective addition of diethylzinc to benzaldehyde*, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1998, 9, 18, 3203-3212,
- [173]. Y. V. Shklyayev, V. A. Glushkov, M. A. El'tzov, Y. V. Gatilov, I. Y. Bagryanskaya, A. G. Tolstikov, *Synthesis of regioisomeric (S)-(+)-3,3,4-trimethyl-8-methoxy-3,4-dihydrobenzoisoquinolin-1(2H)-one and (S)-(+)-1,2,2-trimethyl-8-methoxy-1,2-dihydrobenzoisoquinolin-4(3H)-one by the Ritter reaction*, *Mendeleev Communications*, 2005, 3, 125-127

8. Dorobek naukowy

8.1. Publikacje

1. A. Mrozek-Wilczkiewicz, D. S. Kalinowski, R. Musiol, J. Finster, A. Szurko, K. Serafin, **M. Knaś**, S. K. Kamalapuram, Z. Kovacevic, J. Jampilek, A. Ratuszna, J. Rzeszowska-Wolny, D. R. Richardson, J. Polanski, *Investigating the anti-proliferative activity of styrylazanaphthalenes and azanaphthalenediones*, Bioorg. Med. Chem., 2010, 18, 2664-2671
2. J. Polanski, M. Sajewicz, **M. Knaś**, M. Gontarska, T. Kowalska, *Lateral relocation in thin-layer chromatography*, J. Planar Chromatogr.-Modern TLC, 2012, 25, 3, 208-213
3. J. Polański, M. Sajewicz, **M. Knaś**, A. Żywociński, M. Weloe, T. Kowalska, *Chiral rotors and an evidence of their action in planar chromatography*, Monographic supplement series: Chiral Technologies - chimica oggi / Chemistry Today, 2012, 30, 5, 22-25
4. J. Polanski, M. Sajewicz, **M. Knaś**, T. Kowalska, *Polarimetric detection in HPLC of R(-)-naproxen and its intrinsic weakness*, J. Chrom. Sci., 2013, 51, 349-354
5. J. Polański, M. Sajewicz, **M. Knaś**, A. Żywociński, M. Weloe, T. Kowalska, *Temperature effect with molecular rotors in thin-layer chromatography*, Vestnik St. Petersburg, 2013, 2, 106-113
6. **M. Knaś**, D. Szeremeta, J. Polański, M. Sajewicz, T. Kowalska, *Specific mobility of selected phytochemicals in thin-layer chromatographic systems and its possible relevance to pharmacokinetics*, Acta Chromatographica, DOI: 10.1556/AChrom.25.2013.4.14

8.2. Udział w konferencjach naukowych

1. *Synthesis of the derivatives of vitamin C and their liposomes for a possible anticancer treatment*, **M. Knaś**, A. Mrozek-Wilczkiewicz, A. Szurko, A. Ratuszna, J. Polanski, XIII Gliwickie Spotkania Naukowe, 20-21 listopad 2009, Gliwice, Polska
2. *Design and synthesis of the novel derivatives of 5,8-quinolinodione for a potential antiviral and anticancer treatment*, **M. Knaś**, P. Mazur, H. Niedbała, J. Pogański, XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, 12-15 wrzesień 2010, Gdańsk, Polska
3. *The novel derivatives of 5,8-quinolinodione as a potential antiviral and anticancer drug candidates*, **M. Knaś**, P. Mazur, H. Niedbała, J. Polański, XIV Gliwickie Spotkania Naukowe, 26-27 listopad 2010, Gliwice, Polska
4. *Wpływ impregnacji faz stacjonarnych stosowanych w TLC przy pomocy L- i DL-argininy na renencję naproksenu*, M. Sajewicz, M. Gontarska, **M. Knaś**, K. Musik, J. Polański, T. Kowalska, V Sympozjum Naukowe nt. „Aktualne problemy Chemii Analitycznej”, 13 maj 2011, Katowice, Polska
5. *On the influence of impregnation with L-and DL-arginine on retention of naproxen in the TLC systems*, M. Sajewicz, M. Gontarska, **M. Knaś**, K. Musik, J. Polański, T. Kowalska, “The XXXIVth Symposium Chromatographic methods of Investigating the Organic Compounds”, 8-10 czerwiec 2011, Szczyrk, Polska
6. *Profens as chiral rotors in TLC*, **M. Knaś**, M. Gontarska, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, IV Konwersatorium Chemii Medycznej, 8-10 wrzesień 2011, Lublin, Polska
7. *Biologically active compounds as chiral rotors in TLC*, **M. Knaś**, M. Gontarska, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, 40th conference „Drug synthesis and analysis”, 12-14 wrzesień 2011, Brno, Czechy
8. *Profens as chiral rotors in TLC*, **M. Knaś**, M. Gontarska, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, 54. Zjazd PTChem i SITPCHEM, 18-22 wrzesień 2011, Lublin, Polska

9. *Derivatives of 2-phenylpropionic acid as molecular rotors in thin-layer chromatography systems*, **M. Knaś**, M. Gontarska, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, XV Gliwickie Spotkania Naukowe, 18-19 listopad 2011, Gliwice, Polska
10. *2-phenylpropionic acid as molecular rotor in thin-layer chromatography systems*, **M. Knaś**, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, "The XXXVth Symposium Chromatographic methods of Investigating the Organic Compounds", 30 maj-1 czerwiec 2012, Szczyrk, Polska
11. *Polarimetric detection in high-performance liquid chromatography and its intrinsic weakness*, J. Polański, M. Sajewicz, **M. Knaś**, T. Kowalska, "The XXXVth Symposium Chromatographic methods of Investigating the Organic Compounds", 30 maj-1 czerwiec 2012, Szczyrk, Polska
12. *Chiral rotors and an evidence of their action in planar chromatography*, J. Polański, M. Sajewicz, **M. Knaś**, A. Zywociński, M. Weloe, T. Kowalska, "Nowoczesne techniki badawcze w ocenie jakości produktów leczniczych", 20-21 wrzesień 2012, Lublin, Polska
13. *Densitometric detection in TLC of small chiral molecules and its intrinsic weakness*, **M. Knaś**, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, "Nowoczesne techniki badawcze w ocenie jakości produktów leczniczych", 20-21 wrzesień 2012, Lublin, Polska
14. *Pomiędzy Naukami, Zjazd Fizyków i Chemików, I Ogólnopolska Konferencja dla studentów i doktorantów*, 5 październik 2012, Chorzów, Polska- organizator, komisja naukowa
15. *Molecular rotors and an evidence of their action in a different kind of flows*, **M. Knaś**, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, "International Congress of Young Chemists", 10-14 październik 2012, Gdańsk, Polska
16. *Concept and synthesis of the selected propeller type test compounds to demonstrate later relocations in TLC*, **M. Knaś**, M. Sajewicz, T. Kowalska, J. Polański, Belgrade Food International Conference "Food, Health and well being", 26-28 listopad 2012, Belgrad, Serbia

17. „Krajowe ramy kwalifikacji- zmiana dla edukacji i rynku pracy”, 28 styczeń 2013, Kraków, Polska- słuchacz
18. *Specyficzna mobilność wybranych związków chemicznych w układach TLC i jej znaczenie dla farmakokinetiki*, **M. Knaś**, D. Szeremeta, J. Polański, M. Sajewicz, T. Kowalska, VII Sympozjum Naukowe nt. „Aktualne problemy Chemii Analitycznej”, 17 maj 2013, Katowice, Polska
19. *Specific mobility of selected phytochemicals in thin-layer chromatographic systems and its possible relevance to pharmacokinetics*, **M. Knaś**, D. Szeremeta, J. Polański, M. Sajewicz, T. Kowalska, “The XXXVIth Symposium Chromatographic methods of Investigating the Organic Compounds”, 5-7 czerwiec 2013, Szczyrk, Polska
20. *Mass transport in thin-layer chromatography as an auxiliary for pharmacokinetics*, **M. Knaś**, J. Polański, M. Sajewicz, T. Kowalska, International Conference Emergence in Chemical Systems 3.0, 17-22 czerwiec Anchorage, Alaska, USA

9. CURRICULUM VITAE

Imię i nazwisko: Magdalena Knaś

Data urodzenia: 18.04.1984 r.

Obywatelstwo: polskie

Stan cywilny: panna

Adres: ul. Kurpiowska 6/15, 40-215, Katowice

Email: knaska@o2.pl

Telefon: 667886669



Wykształcenie:

od 2008.07. do chwili obecnej- Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, studia doktoranckie, kierunek: chemia

od 2003.10. do 2008.06.- Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, kierunek: chemia, specjalizacja: Synteza i fizykochemia związków organicznych i nieorganicznych, stopień naukowy: magister

od 1999.09. do 2003.06.- VI Liceum Ogólnokształcące im. Jana Długosza w Katowicach, profil: ogólny, fakultet: biologiczno- chemiczny

Doświadczenie zawodowe:

2010.06.- Zakład Chemii Organicznej w Universidad de Granada, Hiszpania, stypendium UPGOW dla doktorantów Uniwersytetu Śląskiego

2010.12.- ENS Cachan- École normale supérieure de Cachan, Francja, pobyt w laboratorium LBPA, wyjazd szkoleniowy Erasmus dla pracowników Uniwersytetu Śląskiego

od 2008.10. do 2010.09.- Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, Instytut Chemii, wymiar: pełen etat, stanowisko: chemik

Języki obce: j. polski: ojczysty, j. angielski: znajomość b.dobra, j. niemiecki: znajomość podstawowa